

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMBINASI KAYU
MANIS (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) DAN BUNGA
BUNGUR (*Lagerstroemia Speciose L*) TERHADAP DISTRIBUSI
Malondialdehyde (MDA) DAN F2-ISOPROSTAN JARINGAN
HEPAR PADA TIKUS (*Rattus norvergicus*) DIET
HIPERGLUKOSA**

SKRIPSI

Oleh :

TITO ADIKRESNA

125130100111018



**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN
FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMBINASI KAYU
MANIS (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) DAN BUNGA
BUNGUR (*Lagerstroemia Speciose L*) TERHADAP EKSPRESI
Malondialdehyde (MDA) DAN F2-ISOPROSTAN JARINGAN
HEPAR PADA TIKUS (*Rattus norvergicus*) DIET
HIPERGLUKOSA**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Kedokteran Hewan

Oleh :

TITO ADIKRESNA

125130100111018



PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER HEWAN

FAKULTAS KEDOKTERAN HEWAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2018

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMBINASI KAYU MANIS
(*Cinnamomum Burmnanii* (NESS) BI) DAN BUNGA BUNGUR (*Lagerstroemia
Speciose* L) TERHADAP EKSPRESI *Malondialdehyde* (MDA) DAN F2-
ISOPROSTAN JARINGAN HEPAR PADA TIKUS (*Rattus norvergicus*) DIET
HIPERGLUKOSA**

Oleh :

Tito Adikresna

NIM. 125130100111018

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji

Pada tanggal 15 Februari 2018

Dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar

Sarjana Kedokteran Hewan

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr. Masdiana C. Padaga., drh., M.App. Sc

NIP. 19560210 198403 2 001

Wibi Riawan, S.Si., M.Biomed

NIP. 19770131 200501 1 001

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran Hewan
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES

NIP. 19600903 198802 2 001

LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertandatangan dibawah ini :

Nama : Tito Adikresna

NIM : 125130100111018

Program Studi : Pendidikan Dokter Hewan

Penulis Skripsi berjudul :

Pengaruh Pemberian Ekstrak Kombinasi Kayu Manis (*Cinnamomum Burmnanii* (NESS) BI) Dan Bunga Bungur (*Lagerstroemia Speciose L*) Terhadap Ekspresi *Malondialdehyde* (MDA) Dan F2-Isoprostan Jaringan Hepar Pada Tikus (*Rattus Norvergicus*) Diet Hiperglukosa

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya saya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang tercantum di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 15 Februari 2018

Yang Menyatakan,

Tito Adikresna

NIM. 125130100111018

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK KOMBINASI KAYU MANIS
(*Cinnamomum Burmnanii* (NESS) BI) DAN BUNGA BUNGUR
(*Lagerstroemia Speciose* L) TERHADAP EKSPRESI *Malondialdehyde* (MDA)
DAN F2-ISOPROSTAN JARINGAN HEPAR PADA TIKUS (*Rattus
norvergicus*) DIET HIPERGLUKOSA**

ABSTRAK

Hiperglukosa merupakan suatu kondisi dimana *Impaired Fasting Glucose* (IFG) atau Gula Darah Puasa Terganggu (GDPT) dan *Impaired Glucose Tolerance* (IGT) atau Toleransi Glukosa Terganggu (TGT) yang merupakan faktor resiko yang kuat terhadap terjadinya penyakit diabetes melitus, yang pada gilirannya akan menampilkan komplikasi yang kompleks dan multipel. Data dari Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur tahun 2012 Diabetes Mellitus merupakan penyakit terbanyak nomor dua setelah hipertensi yakni sebanyak 102.399 kasus dengan prevalensi penderita DM yang terus meningkat 31.9% setiap tahunnya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui Pengaruh Pemberian ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia Speciose* L) terhadap ekspresi *Malondialdehyde* (MDA) dan F2-isoprostan pada tikus (*Rattus Norvergicus*) jantan strain wistar dengan berat badan kisaran 150-200 gram diet hiperglukosa. Penelitian ini menggunakan glukosa 10% dan fruktosa 15% yang ditambahkan pada pakan harian tikus sebagai induksi terjadinya keadaan Hiperglukosa selama 14 hari berturut-turut. Pemeriksaan sampel organ jaringan hepar dilakukan dengan uji imunohistokimia. Data analisa ekspresi *Malondialdehyde* (MDA) Dan F2-Isoprostan secara kuantitatif menggunakan pengujian *Immunoratio*. Data analisa secara kuantitatif untuk hasil uji imunohistokimia *Malondialdehyde* (MDA) Dan F2-Isoprostan. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terapi ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur secara signifikan ($p < 0,05$) mampu menurunkan ekspresi *Malondialdehyde* (MDA) Dan F2-Isoprostan. Dosis 18 mg/kgBB merupakan dosis efektif dengan presentasi penurunan *Malondialdehyde* (MDA) sebesar 87,3% dan ekspresi F2-Isoprostan sebesar 89,9%. Kesimpulan dari penelitian ini adalah terapi ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur dapat digunakan sebagai alternatif terapi hiperglukosa.

Kata kunci: Hiperglukosa, *Cinnamomum Burmnanii*, *Langestromia Speciose* L, MDA, F2-Isoprostan

Effect of Combination of Cinnamon Extract (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) And Flowers Bungur (*Lagerstroemia speciose L*) Against Expression of *Malondialdehyde* (MDA) and F2-Isoprostane Hepar Tissue In Rat (*Rattus norvergicus*) Diet Hyperglukose.

ABSTRACT

Hiperglukosa is a condition in which impaired fasting glucose (IFG) or Fasting Blood Sugar Impaired (GDPT), and impaired glucose tolerance (IGT) or Impaired Glucose Tolerance (IGT), which is a strong risk factor for the occurrence of diabetes mellitus, which in turn will displays a complex and multiple complications. Data from the East Java Provincial Health Office in 2012 Diabetes Mellitus is the most prevalent diseases secondary to hypertension that as many as 102 399 cases with a prevalence of diabetes continues to increase 31.9% annually. The purpose of this study was to determine the effect of extract combination of cinnamon (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) and interest bungur (*Lagerstroemia speciose L*) on the expression of *Malondialdehyde* (MDA) and F2-isoprostane hepar tissue in rats (*Rattus Norvergicus*) male strain Wistar weight the range of 150-200 grams hiperglukosa diets. This study uses a 10% glucose and 15% fructose is added to the daily feeding mice the induction of the state Hiperglukosa for 14 consecutive days. Examination performed by immunohistochemistry test. Data analysis quantitative immunohistochemistry test results *Malondialdehyde* (MDA) and F2-Isoprostan. The results of this study showed that the combination therapy extract of cinnamon and bungur flowers significantly (p <0.05) decrease the expression of *Malondialdehyde* (MDA) And F2-Isoprostan. A dose of 18 mg/body weight is the effective dose to the presentation of a decrease in *Malondialdehyde* (MDA) is by 87.3% and the expression of F2-Isoprostan by 89.9%. The conclusion of this study combination therapy extract of cinnamon and bungur flowers can be used as an alternative for hiperglukose therapy.

Keywords: Hiperglukosa, *Cinnammomum Burmnanii*, *Langestromia Speciose L*, MDA, F2-Isoprostane

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah memberikan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi yang berjudul “Pengaruh Pemberian Ekstrak Kombinasi Kayu Manis (*Cinnamomum Burmannii* (NESS) BI) Dan Bunga Bungur (*Lagerstroemia Speciose* L) Terhadap Ekspresi *Malondialdehyde* (MDA) Dan F2-Isoprostan Jaringan Hepar Pada Tikus (*Rattus Norvegicus*) Diet Hiperglukosa”. Penelitian ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Kedokteran Hewan pada Program Kedokteran Hewan, Program Studi Pendidikan Dokter Hewan, Universitas Brawijaya.

Dengan penuh rasa hormat dan ketulusan hati, penulis mengucapkan terima kasih kepada segenap pihak secara langsung maupun tidak langsung yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini. Dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih terutama kepada :

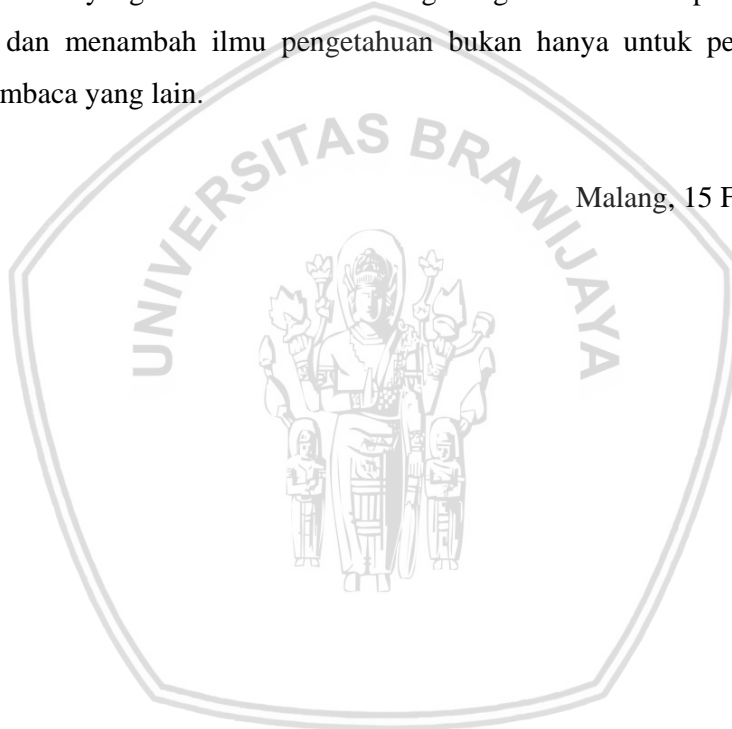
1. Prof. Dr. Aulanni'am, drh., DES sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Hewan atas segala bantuan, bimbingan, kesabaran, nasihat, waktu, dan arahan yang diberikan tiada hentinya kepada penulis.
2. Dr. Masdiana C. Padaga., drh., M.App.Sc sebagai Pembimbing I atas segala bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
3. Bapak Wibi Riawan, S.Si., M.Sc., Ph.D sebagai Pembimbing II atas segala bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
4. Drh. Fajar Shodiq Permata, M.Biotech dan Drh. M. Arfan Lesmana, M.Sc sebagai Penguji atas segala bimbingan dan arahan yang telah diberikan kepada penulis.
5. Keluarga penulis yakni Bapak Sunarto, Ibu Suti, adek Yulinda Dwi K. yang telah memberikan dukungan baik moral dan material kepada penulis untuk tetap semangat dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Tim Penelitian “*GLUKOLicious*” yakni Dessy, Putri dan Rafika atas kerjasama selama penelitian.

7. Sahabat tercinta yakni Yudi Ardianto dan Basofi Andra A. yang senantiasa memberikan dukungan moril terhadap penulis.
8. Seluruh sahabat VENA12, angkatan 2012 FKH UB atas segala perhatian, dorongan, dukungan dan doa yang telah diberikan.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penulisan skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata, penulis berharap semoga Tuhan membalas segala kebaikan serta ketulusan yang telah diberikan. Semoga Tugas Akhir ini dapat memberikan manfaat dan menambah ilmu pengetahuan bukan hanya untuk penulis namun untuk pembaca yang lain.

Malang, 15 Februari 2018

Penulis



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI	ii
LEMBAR PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG.....	xiii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	3
1.4 Tujuan Penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Hiperglukosa	6
2.2 Diabetes mellitus.....	7
2.3 Patomekanisme	8
2.4 Ekspresi <i>Malondialdehyde</i> (MDA)	9
2.5 Ekspresi F2-Isoprostan.....	12
2.6 Kayu Manis (<i>Cinnamomum burmannii</i>).....	13
2.7 Bunga Bungur (<i>Lagerstroemia speciosa</i>)	16
2.8 Fruktosa dan Glukosa	18
2.9 Tikus putih (<i>Rattus novergicus</i>) Model Hiperglukosa.....	19
2.10 Anatomi Hepar.....	20
BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	24
3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	24
3.2 Hipotesis Penelitian	28
BAB 4. METODE PENELITIAN.....	29
4.1 Tempat dan Waktu Penelitian	29
4.2 Alat dan Bahan	29
4.2.1 Alat	29
4.2.2 Bahan	29
4.3 Tahapan Penelitian	30
4.4 Prosedur Kerja	31
4.4.1 Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan Coba	31

4.4.2	Persiapan hewan model tikus (<i>Rattus norvegicus</i>) diet Hiperglukosa.....	33
4.4.3	Preparasi pemberian dan pembuatan serta penentuan dosis ekstrak.....	34
4.4.4	Terapi Ekstrak Kombinasi Bunga Bungur dan Kayu Manis.....	35
4.4.5	Isolasi Organ Hepar.....	36
4.4.6	Pembuatan Preparat Histologi hepar.....	36
4.4.7	Pengamatan ekspresi MDA dan F2-Isoprostan dengan metode immunohistokimia.....	37
4.4.8	Analisis data ekspresi MDA dan F2-Isoprostan.....	38
BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN.....		40
5.1	Pengaruh terapi pada Ekspresi <i>Malondialdehyde</i> (MDA).....	40
5.2	Pengaruh terapi pada Ekspresi F2-Isoprostan.....	45
BAB 6. PENUTUP.....		51
6.1	Kesimpulan.....	51
6.2	Saran.....	51
DAFTAR PUSTAKA		52
LAMPIRAN		59

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
4.1 Tabel Rancangan Kelompok Penelitian	33
5.1 Tabel Ekspresi <i>Malondialdehyde</i> (MDA) pada hepar	42
4.1 Tabel Ekspresi F2-Isoprostan pada hepar	46



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Gambar Kayu Manis (<i>Cinnomomum burmanii</i>)	14
2.2 Gambar Bunga Bungur (<i>Lagerstroemia speciosa</i>)	16
2.3 Gambar Anatomi Hati	21



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
Lampiran 1. Sertifikat Layak Etik dari Komisi Penelitian UB	59
Lampiran 2. Sertifikat Ekstrak dari PT. Dextra Medika Laboratorium..	60
Lampiran 3. Diagram Alir Pembuatan Preparat Imunohistokimia	61
Lampiran 4. Skema Kerja Penelitian	62
Lampiran 5. Perhitungan Dosis Ekstrak	63
Lampiran 6. Pembuatan Preparat Pankreas.....	65
Lampiran 7. Pemberian dan Pembuatan Pakan Diet Tinggi Glukosa..	66
Lampiran 8. Data Hasil Ekspresi dan Perhitungan MDA.....	67
Lampiran 9. Hasil Uji Statistika Ekspresi <i>Malondialdehyde</i> (MDA)..	68
Lampiran 10. Data Hasil Ekspresi dan Perhitungan F2-Isoprostan	72
Lampiran 11. Hasil Uji Statistika Ekspresi F2-Isoprostan	73
Lampiran 12. Data Hasil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Tikus	77



DAFTAR ISTILAH DAN LAMBANG

Singkatan	Keterangan
IFG	<i>impaired fasting glucose</i>
IGT	<i>impaired glucose tolerance</i>
NEFA	<i>Non-Esterifikasi Fat Acid</i>
IDDM	<i>Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
NIDDM	<i>Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus</i>
DM	<i>Diabetes Mellitus</i>
MHCP	<i>Methyl Hydroxyl Chalcone Polymer</i>
DNL	<i>De Novo Lipogenesis</i>
TLC	<i>Thin Layer Chromatography</i>
SA-HRP	<i>Strep Avidin Horse Radish Peroxidase</i>
IHK	<i>Imunohistokimia</i>
DAB	<i>Diaminobenzidine</i>
MDA	<i>Malondialdehyde</i>
PUFA	<i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hiperglukosa atau prediabetes merupakan suatu kondisi dimana kadar gula darah terlalu tinggi untuk dianggap normal tetapi tidak cukup tinggi untuk dilabelkan sebagai diabetes. Pada kondisi hiperglukosa terjadi peningkatan kadar glukosa darah meliputi, *impaired fasting glucose* (IFG) dan *impaired glucose tolerance* (IGT) yang merupakan faktor risiko yang kuat terhadap terjadinya penyakit diabetes melitus.

Saat ini, angka penderita diabetes melitus cenderung meningkat signifikan. Pada tahun 2000, diperkirakan minimal terdapat 4 juta prevalensi DM di Indonesia, sedangkan di seluruh dunia terdapat kurang lebih 175,4 juta penderita DM (Tjokroprawiro, 2000). DM merupakan penyebab kematian ke-6 setelah stroke di Indonesia dengan proporsi kematian sebesar 5,8% (DEPKES, 2010).

Berdasarkan fakta diatas maka dibutuhkan suatu alternative bahan makanan yang dapat digunakan sebagai penurun gula darah pada kondisi hiperglukosa atau prediabetes. Produk alami seperti rempah-rempah yang biasanya digunakan sebagai penambahan cita rasa pada makanan kini telah diketahui memiliki manfaat lain yakni berperan dalam metabolisme karbohidrat (Khan et al.,2003). Salah satunya adalah kayu manis. Dari 54 spesies kayu manis (*Cinnamomum sp.*) yang dikenal didunia, 12 diantaranya terdapat di Indonesia. Tanaman kayu manis yang banyak dikembangkan di Indonesia adalah *Cinnamomum Burmannii* yang merupakan usaha perkebunan rakyat, terutama di Sumatera Barat , Jambi dan Sumatera Utara (Wangsa,2006). Dan

tanaman jenis lain yang juga dapat menurunkan kadar gula darah (bersifat hipoglikemik) adalah tanaman bungur (*Lagerstroemia*) (Dalimartha, 2005).

Kayu manis (*Cinamomum burmannii*) telah beberapa kali diteliti dapat menurunkan kadar glukosa darah, total kolesterol, dan kadar trigliserida (Khan, 2003). Kayu manis memiliki kandungan *methyl hydroxyl chalcone polymer* (MHCP) dan zat-zat lain yang dapat membantu meningkatkan uptake glukosa dan fosforilasi insulin reseptor (Safdar, 2004). Namun dalam beberapa jurnal Diabetes Care tidak disebutkan jumlah dan kandungan spesifik dari tiap zat aktif yang terkandung dalam kayu manis. Jurnal-jurnal tersebut hanya menyatakan perlunya penelitian lebih lanjut mengenai kadar dan pengaruh kayu manis (Ziegenfuss, 2006).

Bungur (*Lagerstroemia speciosa* Pers.) adalah salah satu tanaman obat yang tumbuh di Indonesia. Tanaman ini banyak dijumpai sebagai peneduh jalan, akan tetapi tanaman ini bisa digunakan untuk obat untuk menurunkan kadar gula darah. Dalam pengobatan tradisional sebagai obat penurun kadar gula darah, tanaman bungur biasanya digunakan dalam bentuk rebusan. Biji tanaman ini dapat digunakan untuk mengobati tekanan darah tinggi dan kencing manis. Daunnya digunakan untuk mengobati kencing batu, kencing manis, dan tekanan darah tinggi, sedangkan bagian kulit kayu digunakan untuk mengobati diare, disentri dan kencing darah. Daun bungur memiliki kandungan kimia, seperti saponin, flavonoid dan tanin, sedangkan pada kulit batang bungur mengandung flavonoid dan tanin (Dalimartha, 2003).

Berdasarkan latar belakang di atas, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dan mempelajari potensi kayu manis dan bunga bungur terhadap hiperglukosa. Pemberian ekstrak kombinasi Kayu Manis (*Cinnamomum Burmannii* (NESS) BI)

dan Bunga Bungur (*Lagerstroemia Speciose L*) pada penelitian ini digunakan untuk mengetahui distribusi *Malondialdehyde* (MDA) dan F2-Isoprostan jaringan hepar pada tikus (*Rattus norvergicus*) diet hiperglukosa.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan, dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut :

- 1) Bagaimana potensi kombinasi ekstrak bunga bungur (*Lagerstromia Speciose L*) dan kayu manis (*Cinnammomum Burmanii* (NESS) BI) sebagai bahan terapi hiperglukosa pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*)?
- 2) Apakah terjadi penurunan distribusi MDA (*malondialdehyde*) dan F2 Isoprostan pada hepar tikus (*Rattus norvergicus*) model hiperglukosa yang telah diterapi menggunakan kombinasi ekstrak bunga bungur (*Langestromia Speciose L*) dan kayu manis (*Cinnammomum Burmanii* (NESS) BI)?

1.3 Batasan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, makan penelitian ini dibatasi pada :

1. Hewan model yang digunakan adalah tikus (*Rattus norvergicus*) jantan strain wistar dengan berat badan 150-200 gram dan umur 8-12 minggu. Hewan model diperoleh dari Peternakan Tikus milik Bapak Purnomo Sumbersekar-Dau. Penggunaan hewan coba dalam penelitian telah mendapatkan sertifikat layak etik dari Komisi Penelitian Universitas Brawijaya.(*Lampiran 1*)
2. Pembuatan keadaan hiperglukosa pada hewan diet tikus menggunakan glukosa dan fruktosa yang didapatkan dari Laboratorium Biokimia Universitas

Brawijaya. Diet yang diberikan adalah campuran glukosa 10% dan fruktosa 15% dari jumlah pakan perhari kedalam pakan tikus selama 14 hari.

3. Dosis ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Largestroemia Speciose L*) yaitu 9 mg Ekstrak diberikan selama 14 hari . Ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia Speciose L*) diperoleh dari PT. Dexa medical laboratorium. (Lampiran 2)
4. Variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah distribusi *Malondialdehyde* (MDA) dan F2-Isoprostan jaringan hepar yang dilihat dengan menggunakan metode imunohistokimia (IHK).

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Langestromia Speciose L*) terhadap terhadap distribusi *Malondialdehyde* (MDA) dan F2-Isoprostan jaringan hepar pada tikus (*Rattus norvergicus*) diet hiperglukosa.
2. Mengetahui potensi ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Langestromia Speciose L*) sebagai bahan terapi hiperglukosa pada hewan model tikus (*Rattus norvegicus*).

1.5 Manfaat Penelitian

1. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai pengaruh pemberian ekstrak kombinasi Kayu Manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan Bunga Bungur (*Langestromia Speciose L*)

terhadap distribusi *Malondialdehyde* (MDA) dan F2-Isoprostan jaringan hepar pada tikus (*Rattus norvergicus*) diet hiperglukosa.

2. Penelitian ini dapat dijadikan dasar untuk mengolah herbal kayu manis *Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Langestromia Speciose L*) yang mudah diambil manfaatnya guna menurunkan distribusi *Malondialdehyde* (MDA) serta menurunkan distribusi F2-Isoprostan pada tikus (*Rattus norvergicus*) diet hiperglukosa.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Hiperglukosa

Hiperglukosa atau prediabetes adalah suatu kondisi dimana kadar gula darah terlalu tinggi untuk dianggap normal, tetapi tidak cukup tinggi untuk dilabelkan sebagai diabetes. Orang-orang dikatakan sebagai hiperglukosa jika kadar gula darah puasa mereka adalah antara 101 mg/dL dan 125 mg/dL *impaired fasting glucose* (IFG) atau jika tingkat gula darah mereka 2 jam setelah tes toleransi glukosa adalah antara 140 mg/dL dan 199 mg/dL *impaired glucose tolerance* (IGT). Mengidentifikasi orang yang hiperglukosa adalah sangat penting karena mereka mempunyai resiko yang lebih tinggi untuk menderita penyakit Diabetes Mellitus pada masa depan. Tidak hanya beresiko terhadap penyakit diabetes, hiperglukosa juga berpotensi terhadap penyakit kardiovaskuler lainnya yang nantinya dapat menyebabkan komplikasi yang kompleks (Merck, 2008).

Risiko IGT untuk menjadi diabetes lebih besar dibanding IFG. Progresivitas IGT menjadi diabetes 6 – 10% pertahun, sedangkan bila IGT plus IFG dalam kurun waktu 6 tahun meningkat menjadi 65% dibanding hanya 5% pada keadaan normal. Hampir separuh dari mereka yang dengan IGT berpotensi sebagai sindroma metabolik. Prediabetes berpotensi hampir dua kali lebih tinggi mengalami risiko kardiovaskuler dibanding mereka tanpa IGT atau IFG. Pada wanita dengan prediabetes yang konversi menjadi diabetes memiliki risiko kejadian kardiovaskuler 3 kali lebih sering dibanding mereka yang menetap sebagai prediabetes. Suatu studi menyimpulkan bahwa mereka dengan IGT, atau IFG, atau sindroma metabolik

mengalami konversi menjadi diabetes 8-10% pertahun, sedangkan apabila memiliki ketiganya, lebih dari 10% pertahun (Sudoyo,2007).

2.2 Diabetes Mellitus

Diabetes merupakan penyakit multifaktor dengan tanda-tanda hiperglikemia dan dislipidemia, penyakit diabetes menimbulkan beberapa komplikasi pada beberapa organ. Hiperglikemia terjadi akibat homeostatis glukosa tidak berjalan dengan baik. Diabetes mellitus dapat dikatakan sebagai sindrome dari kumpulan gejala klinis dari aspek metabolic dan vaskuler seperti hiperglikemi puasa dan post prandial, ateroskeloris dan penyakit vaskuler mikroangiopati serta akan berdampak pada semua organ (Gill *et al.*, 2011).

Klasifikasi etiologis DM menurut American Diabetes Association 2010 (ADA, 2010), dibagi dalam 4 jenis yaitu:

1. Diabetes Melitus Tipe 1 atau *Insulin Dependent Diabetes Mellitus/IDDM*

DM tipe 1 terjadi karena adanya destruksi sel beta pankreas karena sebab autoimun. Pada DM tipe ini terdapat sedikit atau tidak sama sekali sekresi insulin dapat ditentukan dengan level protein c-peptida yang jumlahnya sedikit atau tidak terdeteksi sama sekali. Manifestasi klinik pertama dari penyakit ini adalah ketoasidosis.

2. Diabetes Melitus Tipe 2 atau *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus/NIDDM*

Pada penderita DM tipe ini terjadi hiperinsulinemia tetapi insulin tidak bisa membawa glukosa masuk ke dalam jaringan karena terjadi resistensi insulin yang merupakan turunnya kemampuan insulin untuk merangsang pengambilan glukosa

oleh jaringan perifer dan untuk menghambat produksi glukosa oleh hati. Terjadinya resistensi insulin (reseptor insulin sudah tidak aktif karena dianggap kadarnya masih tinggi dalam darah) akan mengakibatkan terjadinya defisiensi relatif insulin. Hal tersebut yang kemudian dapat mengakibatkan berkurangnya sekresi insulin pada adanya glukosa bersama bahan sekresi insulin lain sehingga sel beta pankreas akan mengalami desensitisasi terhadap adanya glukosa. Adanya resistensi yang terjadi perlahan-lahan akan mengakibatkan sensitivitas reseptor akan glukosa berkurang. DM tipe ini sering terdiagnosis setelah terjadi komplikasi.

3. Diabetes Melitus Tipe Lain

DM tipe ini terjadi karena etiologi lain, misalnya pada defek genetik fungsi sel beta, defek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, penyakit metabolik endokrin lain, iatrogenik, infeksi virus, penyakit autoimun dan kelainan genetik lain.

4. Diabetes Melitus Gestasional

DM tipe ini terjadi selama masa kehamilan, dimana intoleransi glukosa didapati pertama kali pada masa kehamilan, biasanya pada trimester kedua dan ketiga. DM gestasional berhubungan dengan meningkatnya komplikasi perinatal. Penderita DM gestasional memiliki risiko lebih besar untuk menderita DM yang menetap dalam jangka waktu 5-10 tahun setelah melahirkan.

2.3 Patomekanisme

Kejadian hiperglukosa terjadi akibat tingginya konsumsi gula yang merangsang produksi hepatic trigliserida dengan mempromosikan reestifikasi dari sirkulasi asam lemak non-esterifikasi (NEFA) dengan merangsang asam lemak

denovo. Akibat dari peningkatan pengiriman trigliserida atau asam lemak non-esterifikasi (NEFA) tersebut maka pada sel pemanfaatan glukosa menjadi terganggu, sehingga merusak aksi insulin. Akibatnya, transporter glukosa di sel otot dan lemak tidak dapat membawa glukosa masuk ke intrasel sehingga terjadi penumpukan di ekstrasel dan menyebabkan kadar glukosa tinggi yang disebut dengan hiperglukosa (Florensia et al., 2011). Selain itu, jaringan hepar ikut berperan dalam mengatur homeostasis glukosa tubuh. Peninggian kadar glukosa darah puasa, lebih ditentukan oleh peningkatan produksi glukosa secara endogen yang berasal dari proses glukoneogenesis dan glikogenolisis di jaringan hepar. Dalam hal ini, insulin berperan melalui efek inhibisi hormon tersebut terhadap mekanisme produksi glukosa endogen secara berlebihan. Semakin tinggi tingkat resistensi insulin, semakin rendah kemampuan inhibisinya terhadap proses glikogenolisis dan glukoneogenesis, dan semakin tinggi tingkat produksi glukosa dari hepar. Terjadinya hiperglukosa mengakibatkan peningkatan produksi ROS (*Reactive Oxygen Species*) sehingga terjadi stress oksidatif yang menyebabkan produksi MDA dan F2-Isoprostano meningkat yang merupakan marker stress oksidatif terutama di jaringan hepar (Manaf, 2009).

2.4 Distribusi *Malondialdehyde* (MDA)

Malondialdehyde (MDA) merupakan senyawa organik dengan rumus molekul $\text{CH}_2(\text{CHO})_2$. Senyawa ini tergolong senyawa aldehyd yang sangat reaktif dan bersifat toksik. MDA terbukti bersifat mutagenik bagi sel manusia karena dapat memodifikasi struktur DNA (Niedernhofer et al., 2003). *Malondialdehyde* (MDA) merupakan lipid

peroksida yang berasal dari radikal bebas yang dapat merusak sistem membran sel dan kematian sel.

Malondialdehyde (MDA) dalam sel dihasilkan dari proses peroksidasi lipid oleh radikal bebas/ROS (*Reactive Oxygen Species*) dan biosintesis prostaglandin. Meningkatnya produksi ROS dapat meningkatkan kadar MDA dalam sel. Oleh karena itu MDA digunakan sebagai salah satu marker untuk mengetahui adanya stress oksidatif dalam sel.

Derajat peroksidase lipid dapat ditunjukkan dengan kadar MDA yang merupakan produk akhir dari peroksidasi *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA). Reaksi peroksidasi lipid tidak jenuh oleh ROS diawali oleh pembentukan radikal lipid, yang terjadi bila lipid berupa asam lemak tidak jenuh bereaksi dengan radikal hidroksil. Selanjutnya, radikal karbon lipida ini bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksil. Radikal peroksil yang terbentuk akan bereaksi lagi dengan atom H yang berasal dari molekul lipida lainnya menghasilkan lipid peroksida dan radikal lipida baru.

Akibat serangan radikal bebas maka akan terbentuk produk oksidatif yang sering digunakan sebagai marker untuk menilai stress oksidatif, dengan penilaian yang akurat terhadap marker tersebut dapat diketahui kondisi patologis yang terjadi pada tubuh seseorang. Biomarker dapat ditemukan dalam darah, urin, dan cairan tubuh lainnya. Beberapa marker/petanda yang digunakan adalah malondialdehid, 4-hidroksinenal akibat peroksidasi lipid, isoprostan akibat kerusakan asam arakidonat, 8-hidroksiguanin dan thiaminglikol akibat kerusakan DNA.²⁸ MDA merupakan salah satu produk final dari peroksidasi lipid. Senyawa ini terbentuk akibat degradasi

radikal bebas hidroksil (OH^*) terhadap Poly Unsaturated Fatty Acid (PUFA) yang nantinya ditransformasi menjadi radikal yang sangat reaktif. Proses terbentuknya MDA dapat dijelaskan sebagai berikut, radikal bebas oksigen (O_2^*) diproduksi melalui proses enzimatis dan non enzimatis. Sel-sel tubuh yang dapat membentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 adalah sel polimorfonuklear, monosit dan makrofag.

Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD dan ion Cu^{+2} menjadi H_2O_2 . Hidrogen peroksida (H_2O_2) ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom dan yang penting H_2O_2 ini dapat menembus membran sel. Sebagai sistem pertahanan tubuh, H_2O_2 oleh katalase dapat diubah menjadi H_2O dan O_2^* . Hidrogen peroksida ini merupakan oksidan yang kuat oleh karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa. Selain itu H_2O_2 oleh enzim glutathione peroksidase diubah menjadi H_2O .

Pada stress oksidatif terbentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 yang berlebih, sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim katalase dan glutathione peroksidase tidak dapat lagi menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. 29 Selanjutnya jika H_2O_2 bereaksi dengan dengan Fe^{+2} dan Cu^{+2} maka terbentuklah radikal bebas hidroksil melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Membran sel terdiri dari banyak komponen penting yaitu fosfolipid, glikolipid, (keduanya mengandung asam lemak tak jenuh) dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh ini sangat peka terhadap radikal hidroksil. Kemampuan radikal hidroksil ini akan membentuk reaksi rantai dengan satu atom hidrogen dari membran sel dan terbentuk peroksidasi lipid.

Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemah menjadi senyawa aldehid yang memiliki daya perusak yang tinggi terhadap sel-sel tubuh antara lain malondialdehid, 4-hidroksinenal, etana dan pentana.³⁰ Demikian pula dengan DNA dan protein juga mengalami kerusakan yang seringkali cukup hebat. ¹⁹ Untuk menentukan kadar MDA dalam tubuh sangat mudah dilakukan baik secara spektrofotometrik maupun fluorimetrik. Karena MDA merupakan produk yang sangat tidak stabil maka cara penyimpanan sampel harus terlindung dari cahaya, dan bila tidak segera diperiksa harus disimpan pada suhu -70°C. Penyimpanan -200°C tidak memadai.²⁶ Pengukuran Kadar MDA dapat menggunakan metode Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). Prinsip analisisnya adalah pemanasan akan menghidrolisis peroksidasi lipid sehingga MDA yang terikat akan dibebaskan dan akan bereaksi dengan TBA dalam suasana asam yang membentuk kompleks MDATBA yang berwarna merah dan diukur pada panjang gelombang 545nm (Raynold, 2010).

2.5 Ekspresi F2-Isoprostan

Isoprostan merupakan senyawa seperti prostaglandin yang terbentuk dari peroksidasi asam arakidonat. Prostaglandin terbentuk melalui kerja enzim siklooksigenase, sedangkan F2-isoprostan terbentuk secara non-enzimatis sebagai hasil dari peroksidase asam arakidonat yang dimediasi oleh radikal bebas (Milne *et al.*, 2005).

Penelitian pada hewan dan manusia mengindikasikan adanya hubungan antara isoprostan dan kondisi inflamasi berat, reperfusi iskemik, diabetes, dan

atherosklerosis. F2-isoprostan merupakan biomarker peroksidasi lipid yang otentik dan dapat digunakan sebagai indikator potensial stress oksidatif secara *in vivo* pada berbagai kondisi klinis, dan juga dalam evaluasi antioksidan atau obat-obatan yang memiliki kemampuan *radical-scavenging* (Basu, 2004).

F2-isoprostan mempunyai beberapa sifat tertentu yang menjadikan senyawa ini dinilai dapat diandalkan sebagai indikator adanya stress oksidatif, yaitu (i) F2-isoprostan merupakan produk spesifik dari peroksidase asam arakidonat, (ii) merupakan senyawa yang stabil, (iii) kadarnya terdeteksi pada jaringan normal dan cairan biologis yang telah diuji, seperti dalam plasma, urin, cairan *Bronchoalveolar Lavage* (BAL), cairan serebrospinal dan empedu, sehingga dapat ditentukan batas normalnya, (iv) pembentukan F2-isoprostan meningkat pada hewan model dengan kerusakan oksidasi, (v) pembentukannya dimodulasi oleh status antioksidan, dan (vi) kadarnya tidak dipengaruhi oleh lemak dalam diet (Roberts and Morrow, 2000; Morrow *et al.*, 1999).

2.6 Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*)

Kayu manis merupakan tumbuhan berhabitus pohon pepagan (kulit batang) berbau khas. Kayu manis memiliki kandungan kimia yang terdiri dari Minyak atsiri 1-3% dengan kandungan kimia utama kulit kayu manis adalah sinamaldehyd (60-85% dari komponen minyak atsiri), tanin, damar, lendir, kalsium oksalat ,dan *methyl hydroxyl chalcone polymer* (MHCP) (Sofyan *et al.*, 2005).



Gambar 2.1 Kayu manis (*Cinnamomum burmannii*)

Kayu manis merupakan rempah-rempah dalam bentuk kulit kayu yang biasa dimanfaatkan masyarakat Indonesia dalam kehidupan sehari-hari. Selain sebagai penambahan cita rasa masakan dan pembuatan kue, sejak dulu ia dikenal punya berbagai khasiat. Tak hanya sampai di situ, kayu manis juga saat ini sudah menjadi bagian dari bahan baku dalam industri jamu dan kecantikan.

Batang kayu manis digunakan sebagai obat anti diare, kejang perut dan untuk mengurangi sekresi pada usus. Buahnya dapat menyembuhkan batuk, sedangkan kulitnya dapat menyembuhkan sariawan, eksema, encok, tekanan darah tinggi, muntah-muntah dan asma. Untuk pengolahan makanan dan minuman, kayu manis sudah lama dimanfaatkan untuk penambah cita rasa serta aroma.

Tumbuhan ini kulitnya mengandung zat-zat: minyak terbang (*sinanilaldehid*, *feladren*, *terpen-terpen*), lender, pati, *kalsium oksalat*, lemak dan zat samak. Sedangkan akarnya mengandung zat-zat: glisirizin, gula, manit, asparagin, dammar, dan *kalsium oksalat* (Hernani, 2002).

Sifat kimia dari kayu manis ialah hangat, pedas, wangi, dan sedikit manis. Sementara itu, kandungan kimianya antara lain minyak atsiri, *safrole*, *sinamadehide*, *eugenol*, *tanin*, dammar, *kalsium oksalat*, dan zat penyamak (Priyo, 2012). Serta salah

satu kandungan senyawanya yaitu MHCP yang berdasarkan penelitian mampu mencegah dan meringankan gejala penyakit diabetes, selain mengandung MHCP kayu manis juga berperan sebagai anti-inflamasi yang digunakan sebagai penghambat peningkatan kadar gen-gen proinflamasi yang berperan dalam peradangan (Khan, 2003).

Menurut studi dari *Agricultural Research Service* kayu manis terbukti dapat menurunkan kadar gula pada penderita diabetes mellitus dan menurunkan asam lemak dalam darah. Kombinasi kandungan zat besi, kalsium mangan membantu mengurangi dan menghilangkan racun, kemudian mencegah sel-sel usus besar serta mencegah timbulnya kanker usus besar, hal ini juga membantu meringankan sindrom iritasi usus besar. Kayu manis juga mengurangi laju pengosongan lambung sehingga mengurangi kenaikan kadar gula darah setelah makan dan tidak akan merasa cepat lapar (Moselhy, 2009).

Para peneliti dari US Departement of Human Research pusat pertanian di Beltsville, Meryland, pernah mempelajari efek berbagai zat makanan termaksud pada kayu manis terhadap gula darah (Gale, 2001). Dalam penelitiannya para ahli menemukan bahwa air dapat larut dalam senyawa yang disebut polifenol *Methyl Hydroxyl Chalcone Polymer* (MHCP) yang berlimpah dalam kayu manis insulin dapat membantu dalam pemanfaatan yang lebih baik. Karena itu kayu manis direkomendasikan mampu mengendalikan gula darah dalam tubuh. Penelitian lainnya juga pernah dilakukan Dr. Joanna Hlebowicz *et al.*, (2007) di Amerika. Penemuan yang di publikasikan dalam "*The American Journal Of Clinical Nutrition*" disebutkan bahwa batang kulit kayu manis memiliki kandungan insulin yang akan melancarkan

proses metabolisme glukosa, sehingga kadar gula di dalam darah bisa ditekan mendekati normal. Penelitian tentang hiperglukosa menggunakan hewan coba berdasarkan dari pathogenesis penyakit pada manusia.

2.7 Bunga Bungur (*Lagerstroemia speciosa*)

Bungur (*Lagerstroemia speciosa*) merupakan tanaman yang banyak tumbuh di Negara Filipina, India, dan Asia Tenggara. Tanaman bungur sering dimanfaatkan secara tradisional di Filipina sebagai obat yang dapat mencegah maupun mengobati diabetes (Vijaykumar, 2006). Bungur merupakan pohon yang tingginya mencapai 5-25m, memiliki akar tunjang, berkayu dan berwarna coklat kehitaman. Daun bungur berwarna hijau tua, berbentuk oval, kaku dengan panjang 9-28 cm dan memiliki lebar 4-12 cm. Bungur memiliki bunga yang berbentuk malai dengan panjang mencapai 40 cm berwarna ungu. Pohon ini memiliki buah dengan bentuk bola sampai bulat memanjang, berdiameter 1-1,5 cm, panjang 2-3,5 cm, berwarna hijau muda dan setelah masak berwarna coklat (Astuti, 2005).



Gambar 2.2 Bunga Bungur (*Lagerstroemia speciosa*)

Kemampuan bunga bungur dalam menurunkan kadar glukosa darah tikus yang mengalami diabetik berkaitan dengan aktifitas biologis senyawa yang terkandung di dalam bunga bungur. Senyawa aktif yang dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus kemungkinan ada tiga kelompok yaitu, alkaloid, saponin, flavonoid.

Liu et al (2001) berhasil menunjukan secara *in vitro* bahwa senyawa aktif bunga bungur mampu meningkatkan kecepatan transport glukosa, namun belum diketahui senyawanya. Hal ini kemudian dibuktikan oleh Hayashi *et al* (2002) dengan mengisolasi senyawa aktif tersebut. Setelah diteliti, ternyata diketahui senyawa aktif dalam daun bungur tidak termasuk dalam ketiga kelompok senyawa diatas, namun masuk dalam kelompok polifenol, yaitu ellagitanin. Ellagitanin tersebut, yaitu lagerstroemia dan flosin B, dan reginin A memiliki sifat yang mirip dengan hormone insulin (*insulin-like compound*). Secara *in vitro*, tiga senyawa tersebut mampu meningkatkan aktifitas transport glukosa ke sel dalam sel adipose. Kemampuan lagerstroemia dan flosin B hampir setengah kali kemampuan insulin dalam meningkatkan kecepatan transport glukosa. Bahkan, reginin A memiliki kemampuan yang hampir sama dengan insulin (Hayashi *et al.*, 2002).

Selain senyawa ellagitanin, senyawa yang terkandung dalam bunga bungur adalah asam korosolat. Asam korosolat merupakan senyawa triterpenoid yang juga memiliki kemampuan meningkatkan transport glukosa ke dalam sel. Asam korosolat atau memiliki nama lain *2alpha-hydroxyursolic acid*, dapat bertindak sebagai antioksidan yang mampu melindungi sel dan menangkal radikal bebas (Vijaykumar, 2006).

Salah satu ramuan tradisional dari Filipina yang digunakan untuk mengobati penderita DM adalah ramuan dari bunga bungur *Lagerstroemia speciosa* (L.) Pers. Dalam pengobatan tradisional sebagai obat diabetes, tanaman bungur biasanya digunakan dalam bentuk rebusan. Biji tanaman ini dapat digunakan untuk mengobati tekanan darah tinggi dan kencing manis. Bunganya digunakan untuk mengobati kencing batu, kencing manis, dan tekanan darah tinggi, sedangkan bagian kulit kayu digunakan untuk mengobati diare, disentri dan kencing darah. Bunga bungur memiliki kandungan kimia, seperti *saponin*, *flavonoid* dan *ellagitanin*, sedangkan pada kulit batang bungur mengandung *flavonoid* dan *tanin*. Biji bungur mengandung senyawa plantisul namun di Indonesia, ekstrak Bunga bungur belum dimanfaatkan sebagai ramuan antidiabetik (Mishra *et al.*, 2000).

2.8 Fruktosa dan Glukosa

Fruktosa merupakan gula yang umumnya terdapat dalam sayuran dan buah-buahan, oleh sebab itu, masyarakat menganggap bahwa fruktosa sepenuhnya aman untuk dikonsumsi (Kim *et al.*, 2010). Fruktosa sendiri merupakan monosakarida (simple sugar), yang dapat digunakan tubuh sebagai sumber energi, tanpa memberi peningkatan yang bermakna terhadap kadar gula darah, dengan memiliki indeks glikemik yang rendah (American Dietetic Association, 2006; Dolson, 2007). Tanpa kita sadari, fruktosa banyak terkandung dalam bahan makanan yang dikonsumsi sehari-hari, seperti pada minuman berkarbonasi soft drinks, juice, sport drinks, permen, selai, *ice cream*, *crackers*, produk susu, hingga pada obat batuk sirup (Kim *et al.*, 2010). Fruktosa menaikkan glukosa plasma lebih kecil dibandingkan dengan

sumber karbohidrat lainnya. Fruktosa dapat digunakan sebagai pemanis pada diet diabetes. Namun bila pengkonsumsiannya di atas 20% dari total energi akan merugikan kolestrol, sebaiknya mengkonsumsi sumber fruktosa yang terbaik terdapat pada buah dan sayuran (Sukardji, 2011).

Glukosa adalah monosakarida yang paling penting, dimana sel hidup menggunakan komponen ini sebagai sumber energi (Schteingart, 2006). Glukosa menjadi salah satu hasil dari proses fotosintesis pada tumbuhan hijau. Dengan bantuan sinar matahari dan pigmen klorofil yang dimilikinya, tumbuhan hijau mampu membentuk glukosa dari molekul karbondioksida dan air (Kim *et al.*, 2010). Glukosa menjadi komponen utama yang membentuk pati, yaitu suatu unit polisakarida dalam gandum, beras, kentang, dan sagu, yang pada umumnya menjadi bahan makanan pokok di berbagai belahan dunia (Schteingart, 2006).

2.9 Tikus putih (*Rattus novergicus*) Model Hiperglukosa

Penelitian mengenai hiperglukosa menggunakan hewan coba berdasarkan dari pathogenesis penyakit pada manusia. Tikus putih (*Rattus novergicus*) termasuk ke dalam hewan mamalia yang memiliki ekor panjang. Ciri-ciri galur ini yaitu memiliki ekor panjang dengan kepala lebih sempit. Telinga tikus tebal dan pendek dengan rambut halus, mata bewarna merah dan berekor panjang. Bobot badan tikus jantan umur 12 minggu mencapai 240 gram sedangkan tikus betina mencapai 200 gram (Sirois, 2005).

Hewan model hiperglukosa adalah hewan laboratorium yang dalam hal tertentu secara natural maupun artificial memiliki respon, serta mempunyai

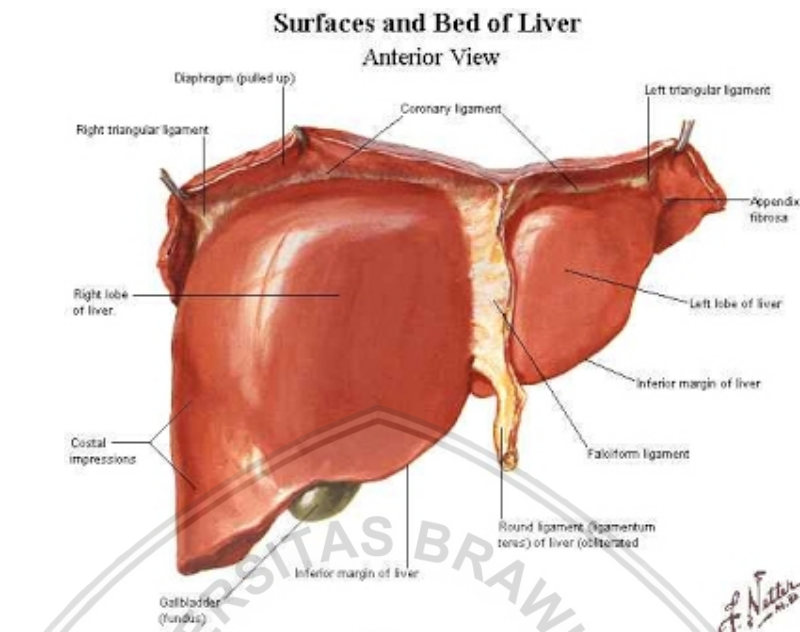
pathogenesis ataupun patofisiologi yang sebagian atau seluruhnya mirip dengan hiperglukosa pada manusia dan hewan (Widyastuti, 2000). Penggunaan hewan model dalam penelitian ini dapat menggunakan *Rattus norvegicus* strain Wistar (David, 2000).

Pembuatan hewan model Hiperglukosa dengan menggunakan campuran glukosa 10% dan fruktosa 15% dari jumlah pakan perhari yang akan dicampurkan pada pakan yang akan diberikan selama 14 hari berturut-turut. Penelitian terhadap hewan coba dan jangka pendek pada manusia menunjukkan bahwa asupan tinggi glukosa dan fruktosa berkontribusi terhadap resistensi insulin dan hiperinsulinemia (Sijani, 2012).

Diperkirakan pada penelitian ini tikus (*Rattus norvegicus*) akan mengalami kondisi hiperglukosa karena diet hiperglukosa. Gula darahnya diperkirakan akan berada diatas 100mg/dL sesuai dengan kadar gula darah hiperglukosa.

2.10 Anatomi Hepar

Hepar atau hati adalah organ terbesar yang terletak di sebelah kanan atas rongga abdomen. Pada kondisi hidup hati berwarna merah tua karena kaya akan persediaan darah (Sloane, 2004). Beratnya 1200-1800 gram, dengan permukaan atas terletak bersentuhan dibawah diafragma, permukaan bawah terletak bersentuhan diatas organ-organ abdomen. Batas atas hepar sejajar dengan ruang interkosta V kanan dan batas bawah menyerong ke atas dari iga IX kanan ke iga VIII kiri. Permukaan posterior hati berbentuk cekung dan terdapat celah transversal sepanjang 5 cm dari sistem porta hepatis (Amirudin, 2009).



Gambar 2.3 Anatomi Hepar Sumber : Netter, 2006

Hepar terbagi menjadi lobus kiri dan lobus kanan yang dipisahkan oleh ligamentum falciforme, diinferior oleh fissura yang dinamakan dengan ligamentum teres dan diposterior oleh fissura yang dinamakan ligamentum venosum (Hadi, 2002). Lobus kanan hepar enam kali lebih besar dari lobus kiri dan mempunyai 3 bagian utama yaitu : lobus kanan atas, lobus caudatus dan lobus quadrates. Menurut Sloane (2004), diantara kedua lobus terdapat porta hepatis, jalur masuk dan keluar pembuluh darah, saraf dan duktus. Hepar dikelilingi oleh kapsula fibrosa yang dinamakan kapsul glisson dan dibungkus peritoneum pada sebagian besar keseluruhan permukaannya (Hadi, 2002). Hepar disuplai oleh dua pembuluh darah yaitu : vena porta hepatica yang berasal dari lambung dan usus yang kaya akan nutrisi seperti asam amino, monosakarida, vitamin yang larut dalam air dan mineral dan arteri hepatica, cabang dari arteri kiliaka yang kaya akan oksigen. Pembuluh darah tersebut

masuk hati melalui porta hepatis yang kemudian dalam porta tersebut vena porta dan arteri hepatica bercabang menjadi dua yakni ke lobus kiri dan ke lobus kanan (Hadi, 2002). Darah dari cabang-cabang arteri hepatica dan vena porta mengalir dari perifer lobulus ke dalam ruang kapiler yang melebar yang disebut sinusoid. Sinusoid ini terdapat diantara barisan sel-sel hepar ke vena sentral. Vena sentral dari semua lobulus hati menyatu untuk membentuk vena hepatica (Sherwood, 2001). Selain cabang-cabang vena porta dan arteri hepatica yang mengelilingi bagian perifer lobulus hati, juga terdapat saluran empedu yang membentuk kapiler empedu yang dinamakan kanalikuli empedu yang berjalan diantara lembaran sel hati (Amirudin, 2009).

Plexus (saraf) hepaticus mengandung serabut dari ganglia simpatis T7-T10, yang bersinaps dalam plexuscoeliacus, nervus vagus dexter dan sinister serta phrenicus dexter (Sherlock, 1995).

Fungsi Hepar Hati adalah organ metabolik terbesar dan terpenting di tubuh. Organ ini penting bagi sistem pencernaan untuk sekresi empedu. Hati menghasilkan empedu sekitar satu liter per hari, yang diekskresi melalui duktus hepaticus kanan dan kiri yang kemudian bergabung membentuk duktus hepaticus komunis. Selain sekresi empedu, hati juga melakukan berbagai fungsi lain, mencakup hal-hal berikut : Pengolahan metabolik kategori nutrien utama (karbohidrat, lemak, protein) setelah penyerapan mereka dari saluran cerna. Petoksifikasi atau degradasi zat-zat sisa dan hormon serta obat dan senyawa asing lainnya, sintesis berbagai protein plasma mencakup protein-protein yang penting untuk pembekuan darah serta untuk mengangkut hormon tiroid, steroid dan kolesterol dalam darah. Penyimpanan

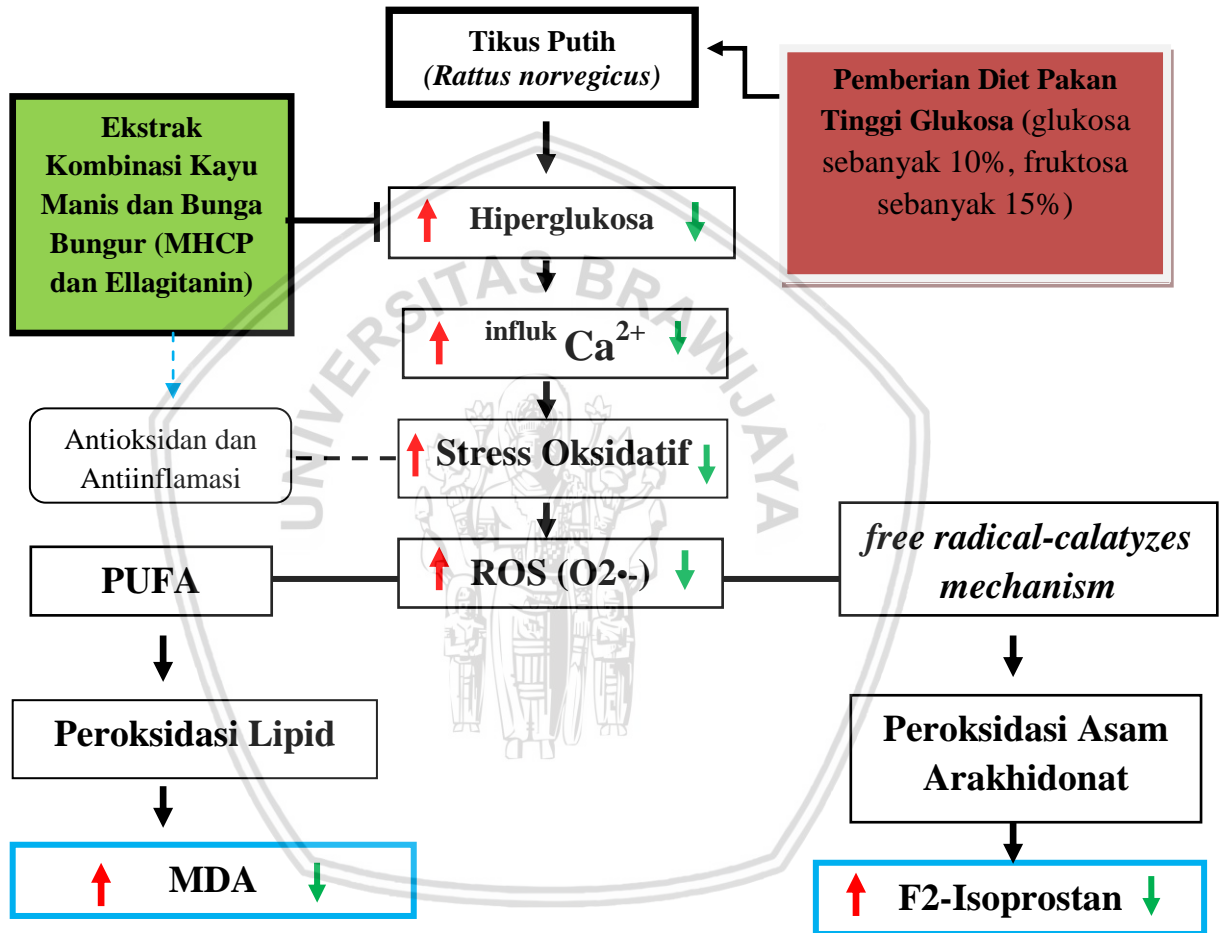
glikogen, lemak, besi, tembaga dan banyak vitamin. Pengaktifan vitamin D, yang dilaksanakan oleh hati bersama dengan ginjal. Pengeluaran bakteri dan sel darah merah yang usang. Ekskresi kolesterol dan bilirubin, yang merupakan produk penguraian yang berasal dari pemecahan sel darah merah yang sudah usang.

Hati merupakan komponen sentral sistem imun. Tiap-tiap sel hati atau hepatosit mampu melaksanakan berbagai tugas metabolik diatas, kecuali aktivitas fagositik yang dilaksanakan oleh makrofag residen atau yang lebih dikenal sebagai sel Kupffer (Sherwood, 2001). Sel Kupffer, yang meliputi 15% dari massa hati serta 80% dari total populasi fagosit tubuh, merupakan sel yang sangat penting dalam menanggulangi antigen yang berasal dari luar tubuh dan mempresentasikan antigen tersebut kepada limfosit (Amiruddin, 2009).



BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :

↓ : Patomekanisme

↑ : Peningkatan

□ : Hewan coba

—|— : Menghambat

| : Terapi

— : Berikatan

■ : Variabel bebas

□ : Variabel tergantung

■ : Paparan

Pemberian sejumlah pakan tambahan glukosa dan fruktosa pada pakan hewan coba merangsang produksi hepatic trigliserida dengan mempromosikan reesterifikasi dari sirkulasi asam lemak non-esterifikasi (NEFA) dengan merangsang sintesis *de novo lipogenesis* (DNL). Peningkatan pengiriman trigliserida atau asam lemak non-esterifikasi (NEFA) mengganggu pemanfaatan glukosa sehingga merusak aksi insulin dan menyebabkan tingginya kadar glukosa darah yang disebut dengan hiperglukosa (Florensia *et al.*, 2011).

Keadaan hiperglukosa yang memicu masuknya kalsium secara berlebihan juga mengakibatkan peningkatan kecepatan aktivitas metabolisme mitokondria, sehingga kebutuhan asupan kalsium dan oksigen akan semakin meningkat. Hal ini menyebabkan gangguan terhadap rantai respirasi sehingga jumlah elektron tunggal (Radikal bebas) yang merembes keluar dari rantai respirasi lalu bereaksi dengan molekul oksigen turut meningkat dan selanjutnya memicu peningkatan reaksi reduksi dan produksi Reactive Oxygen Species (ROS) di mitokondria sehingga menyebabkan keadaan stress oksidatif (Liu, *et al.*, 2002; Chen, *et al.*, 2003; Turrens, 2003). Radikal bebas dapat merusak sel dengan cara merusak membran sel tersebut. Kerusakan pada membran sel ini dapat terjadi dengan cara: (a) radikal bebas berikatan secara kovalen dengan enzim dan/atau reseptor yang berada di membran sel, sehingga merubah aktivitas komponen-komponen yang terdapat pada membran sel tersebut; (b) radikal bebas berikatan secara kovalen dengan komponen membran sel, sehingga merubah struktur membran dan mengakibatkan perubahan fungsi membran dan/atau mengubah karakter membrane menjadi seperti antigen; (c) radikal bebas mengganggu sistem transport membrane sel melalui ikatan kovalen, mengoksidasi kelompok *thiol*, atau dengan merubah asam

lemak *polyunsaturated*; (d) radikal bebas menginisiasi peroksidasi lipid secara langsung terhadap asam lemak *polyunsaturated* dinding sel. Radikal bebas akan menyebabkan terjadinya peroksidasi lipid membran sel. Peroksidasi lipid akan terbentuk dalam rantai yang makin panjang dan dapat merusak organisasi membran sel (Sikka *et al.*, 1995). Peroksidasi ini akan mempengaruhi fluiditas membran, *cross-linking* membran, serta struktur dan fungsi membran (Slater, 1984; Powers and Jackson, 2008).

MDA merupakan salah satu produk final dari peroksidasi lipid. Senyawa ini terbentuk akibat degradasi radikal bebas hidroksil (OH^*) terhadap *Poly Unsaturated Fatty Acid* (PUFA) yang nantinya ditransformasi menjadi radikal yang sangat reaktif. Proses terbentuknya MDA dapat dijelaskan sebagai berikut, radikal bebas oksigen (O_2^*) diproduksi melalui proses enzimatik dan non enzimatik. Sel-sel tubuh yang dapat membentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 adalah sel polimorfonuklir, monosit dan makrofag.

Radikal bebas yang terbentuk akan bereaksi dengan SOD dan ion Cu^{+2} menjadi H_2O_2 . Hidrogen peroksida (H_2O_2) ini banyak diproduksi di mitokondria dan mikrosom dan yang penting H_2O_2 ini dapat menembus membran sel. Sebagai sistem pertahanan tubuh, H_2O_2 oleh katalase dapat diubah menjadi H_2O dan O_2^* . Hidrogen peroksida ini merupakan oksidan yang kuat oleh karena dapat bereaksi dengan berbagai senyawa. Selain itu H_2O_2 oleh enzim glutathion peroksidase diubah menjadi H_2O . Pada stress oksidatif terbentuk radikal bebas oksigen dan H_2O_2 yang berlebih, sehingga sistem proteksi tubuh seperti enzim katalase dan glutathion peroksidase tidak dapat lagi menetralkan semua radikal bebas oksigen yang terbentuk. Selanjutnya jika H_2O_2 bereaksi dengan dengan Fe^{+2} dan Cu^{+2} maka terbentuklah radikal bebas hidroksil

melalui reaksi Fenton dan Haber-Weiss. Radikal hidroksil adalah spesies yang sangat reaktif. Membran sel terdiri dari banyak komponen penting yaitu fosfolipid, glikolipid, (keduanya mengandung asam lemak tak jenuh) dan kolesterol. Asam lemak tak jenuh ini sangat peka terhadap radikal hidroksil.

Kemampuan radikal hidroksil ini akan membentuk reaksi rantai dengan satu atom hidrogen dari membran sel dan terbentuk peroksidasi lipid. Kelanjutan dari reaksi ini adalah terputusnya rantai asam lemak menjadi senyawa aldehid yang memiliki daya perusak yang tinggi terhadap sel-sel tubuh antara lain malondialdehid, 4-hidroksinenal, etana dan pentana.³⁰ Demikian pula dengan DNA dan protein juga mengalami kerusakan yang seringkali cukup hebat.

Selanjutnya, F2-Isoprostan yang merupakan suatu metabolit hasil peroksidasi asam arakhidonat oleh radikal bebas, melalui mekanisme yang dikatalisir langsung oleh radikal bebas (*free radical-catalyzed mechanism*) (Meagher dan FitzGerald, 2004).

Kandungan kombinasi kayu manis *Cinnamomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia Speciose* L) dalam penelitian ini adalah polifenol *Methyl Hydroxyl Chalcone Polymer* (MHCP) dan senyawa ellagitanin, MHCP yang mempunyai efek tiruan sebagai insulin dapat mencegah terjadinya resistensi insulin. Sehingga mampu mencegah peningkatan asam lemak bebas yang dapat menyebabkan penumpukan trigliserida sedangkan senyawa ellagitanin memiliki sifat yang mirip dengan hormon insulin (*insulin-like compound*). Secara *in vitro*, senyawa tersebut mampu meningkatkan aktifitas transport glukosa ke sel dalam sel adipose juga polifenol sebagai antioksidan juga dapat menurunkan kadar enzim *xanthine oksidase* yang berlebihan sehingga menghambat kerusakan sel beta pankreas dan sintesis serta

sekresi insulin akan meningkat (Nugroho, 2006). Kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia Speciose L*) sebagai anti-inflamasi dan antioksidan dapat menurunkan kadar MDA dan F2-Isoprostan. Pemberian ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia Speciose L*) pada tikus diet hiperglukosa akan menurunkan distribusi MDA dan F2-isoprostan dengan cara menurunkan peroksidase lipid sehingga produksi MDA dan F2-Isoprostan menjadi menurun.

3.2 Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian pada penelitian Hiperglukosa dengan pemberian ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia Speciose L*) ini adalah :

1. Pemberian ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia Speciose L*) dapat menurunkan distribusi *Malondialdehyde* (MDA) jaringan hepar tikus (*Rattus norvergicus*) diet Hiperglukosa.
2. Pemberian ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnammomum Burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia Speciose L*) dapat menurunkan distribusi F2-isoprostan jaringan hepar tikus (*Rattus norvergicus*) diet Hiperglukosa.

BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan April 2016 sampai dengan Mei 2016 di Laboratorium Farmakologi FK-UB, Laboratorium Patologi Anatomi FK-UB, Laboratorium Biokimia Universitas Brawijaya.

4.2 Alat dan Bahan

4.2.1 Alat Penelitian

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini, antara lain bak pemeliharaan hewan coba, seperangkat alat gelas (cawan petri, labu takar (10 ml, 100 ml, 500 ml, 1000 ml), gelas obek, spatula, pipet tetes, bekker glass (50 ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml), gloves, tabung erlenmeyer, corong gelas, mortar, mikropipet, stirrer, yellow tips, blue tips, cawan petri, tabung reaksi, glukotest strip, spektrofotometer, seperangkat alat sentrifuse, rak tabung reaksi, inkubator, waterbath, refrigerator, oven, vortex, thermometer, kertas hisap, seperangkat alat bedah, sonde, neraca digital, spuit, mikroskop cahaya, tissue.

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam percobaan ini adalah hewan coba berupa tikus (*Rattus norvegicus*) jantan strain Wistar (umur 8-12 minggu), berat badan sekitar 150-200 gram) diperoleh dari Peternakan Tikus Milik Bapak Purnomo Sumbersekar- Dau, yang mendapat pakan standart AIN-93M dan campuran glukosa 10% dan fruktosa 15%, ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur, cover glass, object glass,

alkohol 70%, alkohol 90%, alkohol 95%, alkohol absolut, akuades, pewarna histologi Hematoxylen-Eosin (HE), *Paraformaldehyde Acid* 4%, Xylol 1,2,3, antibody primer (Rat anti MDA dan Rat anti F2-isoprostanes), antibody sekunder berlabel biotin (Goat Anti Rat biotin labeled), Strep avidin- Horseradish Peroxidase (SA-HRP) dan entellan.

4.3 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan sebagai berikut :

1. Rancangan penelitian dan persiapan hewan coba.
2. Persiapan hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet Hiperglukosa.
3. Pembuatan dan penentuan dosis ekstrak kombinasi Bunga Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI) serta preparasi pemberian ekstrak kombinasi Bunga Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI)
4. Terapi Ekstrak Kombinasi Bunga Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI) pada hewan coba.
5. Isolasi organ hepar.
6. Pembuatan Preparat Histologi hepar.
7. Pengamatan ekspresi MDA dan F2-Isoprostan pada hepar dengan metode Imunohistokimia.
8. Analisis data distribusi *Malondialdehyde* (MDA) dan F2-Isoprostan dengan teknik immunoratio.

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Rancangan Penelitian dan Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Sampel penelitian menggunakan tikus jantan strain wistar berumur 8-12 minggu dengan berat 150-200 gram. Tikus yang digunakan diadaptasi di laboratorium farmakologi universitas brawijaya selama 12 hari dengan pemberian makanan berupa ransum basal pada semua tikus. Komposisi ransum basal disusun berdasarkan standar Association of Analytical Communities (AOAC) (2005) yaitu mengandung karbohidrat, protein 10%, lemak 3%, mineral, vitamin, dan air 12%. Tikus ditempatkan dalam kandang yang berukuran 17.5 x 23.75 x 17.5 cm, dengan jumlah sesuai dengan jumlah tikus yang digunakan. Kandang terbuat dari bak plastik dan ditutupi dengan penutup berbahan kawat. Kandang tikus berlokasi pada tempat yang bebas dari suara ribut dan terjaga dari asap industri serta polutan lainnya. Lantai kandang mudah dibersihkan, suhu optimum ruangan untuk tikus adalah 22-24°C dan kelembaban udara 50-60% dengan ventilasi yang cukup.

Persiapan hewan coba dimulai dengan diaklimatisasi hewan coba selama 12 hari di laboratorium. Pemberian pakan selama masa adaptasi berupa pakan standar sesuai kebutuhan yaitu 20 gram/ekor/hari (10% dari berat badan) dan air minum diberikan secara *ad libitum*. Hewan coba sebanyak 20 ekor dibagi dalam 4 kelompok perlakuan secara acak dimana setiap kelompok hewan coba terdiri dari masing-masing 5 ekor hewan coba. Pemberian diet tinggi glukosa dan fruktosa diberikan selama 14 hari dengan perhitungan glukosa sebanyak 10% dan fruktosa sebanyak 15% dari jumlah pakan tikus per ekor per hari.

Tikus dibagi menjadi 3 kelompok: (1) kelompok sehat (kontrol negatif), tidak dilakukan perlakuan pembedah apapun, (2) kelompok tikus dibuat sakit dengan menambahkan fruktosa dan glukosa pada makanan (kontrol positif) dimana pada kelompok 2 tikus dibuat sakit tanpa dilakukan terapi, (3) kelompok tikus terapi, tikus sehat dibuat sakit dengan menambahkan fruktosa dan glukosa pada makanan, setelah mengalami hiperglukosa diberikan terapi kombinasi ekstrak bunga bungur dan kayu manis secara oral (sonde). Perkiraan besar sampel dihitung berdasarkan rumus (Kusriningrum,2010) :

$$t (n - 1) \geq 15$$

$$5 (n - 1) \geq 15$$

$$5n - 5 \geq 15$$

$$5n \geq 20$$

$$n \geq 4$$

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Berdasarkan perhitungan diatas maka untuk tiga kelompok hewan coba diperlukan jumlah ulangan paling sedikit enam kali dalam setiap kelompok sehingga dibutuhkan 20 ekor hewan coba. Hewan coba dibagi menjadi lima kelompok, yaitu kelompok kontrol negatif yang diberikan diet standart (A), kelompok kontrol positif yang diberikan diet tinggi glukosa dan fruktosa (B), kelompok dosis ekstrak 4,5 mg/kg BB (C), kelompok dosis ekstrak 9 mg/kg BB (D), kelompok dosis ekstrak 18 mg/kg BB (E). (Tabel 4.1)

Tabel 4.1 Rancangan Kelompok Penelitian

Kelompok	Distribusi MDA dan F2-isoprostan			
	1	2	3	4
Kelompok kontrol negatif (A)				
Kelompok kontrol positif (B)				
Kelompok terapi 4,5 mg/kg BB (C)				
Kelompok terapi 9 mg/kg BB (D)				
Kelompok terapi 18 mg/kg BB (E)				

Adapun variabel yang diamati dalam penelitian ini adalah :

Variabel bebas : Glukosa dan fruktosa dan ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur.

Variabel tergantung : Distribusi MDA dan F2-Isoprostan

Variabel kendali : Berat badan, umur dan jenis kelamin tikus

4.4.2 Persiapan hewan model tikus (*Rattus norvegicus*) diet Hiperglukosa

Pemberian pakan berupa fruktosa 15% dan glukosa 10% dicampurkan kedalam 20 gram pakan tikus (ransum). Menurut (Florensia *et al.*, 2011) formulasi pakan yang dicampur dengan fruktosa 15% dan glukosa 10% dapat meningkatkan kadar gula darah dan menyebabkan kondisi hiperglukosa pada tikus (*Rattus norvegicus*).

4.4.3 Preparasi pemberian dan pembuatan serta penentuan dosis ekstrak kombinasi Bunga Bungur (*Lagerstroemia speciosa L*) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI)

Preparasi berupa pengecekan kadar glukosa darah dan pengenceran ekstrak. pengecekan kadar glukosa darah dilakukan dengan menggunakan alat tes glukosa digital (glukometer digital). Untuk glukotest awal, disiapkan stick glukometer dan glukometer digital (*one touch lifescan*) sesuai petunjuk penggunaan. Darah dari ekor ditetaskan pada stick glukometer dan ditunggu hasil yang tertera pada layar glukometer digital. Proses pengecekan kadar glukosa dilakukan setiap kali pemeriksaan glukosa, yaitu sebelum pemberian diet pakan, setelah pemberian diet pakan, dan setelah hewan diterapi. Preparasi selanjutnya yaitu pengenceran ekstrak yaitu dengan mengambil ekstrak sebanyak 0,303 mg, kemudian untuk melarutkan ekstrak ditambahkan dengan aquades sebanyak 10 ml, lalu ekstrak digoyangkan dengan vortex sampai larut, setelah itu ekstrak dipisah berdasarkan dosisnya dan di simpan dalam suhu ruang.

Pemberian terapi ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciosa L*) secara peroral melalui sonde lambung dengan dosis yaitu 4,5 mg/kg BB , dosis sedang 9 mg/kg BB, dan dosis tertinggi 18 mg/kg BB yang diberikan selama 14 hari setelah dilakukan diet tinggi glukosa. Selama pemberian terapi dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa pada semua kelompok perlakuan.

Ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) yang digunakan dalam penelitian ini merupakan ekstrak jadi yang diproduksi oleh PT. Dextra Medica lab dalam bentuk serbuk yang diberikan dengan cara dilarutkan dengan aquades sampai 1ml. Pemberian terapi ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) yaitu secara peroral melalui sonde lambung dengan dosis yaitu 4,5 mg/kg BB, dosis sedang 9 mg/kg BB, dan dosis tertinggi 18 mg/kg BB yang diberikan selama 14 hari setelah dilakukan diet tinggi glukosa. Selama pemberian terapi dilakukan pengukuran kadar glukosa darah puasa pada semua kelompok perlakuan.

4.4.4 Terapi Ekstrak Kombinasi Bunga Bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) dan Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI) pada hewan coba

Tikus kelompok C, D, dan E diberi pakan diet tinggi glukosa selama 14 hari, kemudian diterapi dengan ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) selama 14 hari. Terapi ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) diberikan dengan cara per oral yaitu dengan dicampurkan ke dalam pakan. Dosis ekstrak pada kelompok C sebanyak 4,5mg/kgBB, sedangkan kelompok D dan E diterapi dengan dosis 9mg/kgBB dan 18mg/kg BB. Terapi dilakukan selama 14 hari. Dosis terapi yang diberikan disesuaikan dengan rata-rata berat badan kelompok tikus (*Rattus norvegicus*).

4.4.5 Isolasi Organ Hepar

Isolasi hepar dilakukan pada kelompok kontrol positif, kontrol negatif, dan kelompok terapi pada minggu ke-4 setelah pemberian ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) dan bunga bungur (*Lagestoemia speciosa*). Langkah awal yang dilakukan adalah melakukan dislokasi hewan coba dengan cara memberi tekanan pada medula spinalis diantara formaen magnum dan os.atlas atau antara os.cervicalis 3,4,5, dislokasi yang dilakukan tanpa menghentikan aliran darah ke otak. Kemudian tikus diletakkan diatas nampan bedah dan diletakkan pada posisi dorsal/dorsoventral lalu dilakukan pembedahan dan bagian hepar diisolasi. Diambil organ hepar yang terletak pada bagian dorsal dari rongga abdominal. Organ hepar dibilas dengan NaCl-fisiologis 0,9% dingin untuk mengilangkan darah, kemudian disimpan dalam larutan *Paraformaldehyde Acid* 4%.

4.4.6 Pembuatan Preparat Histologi hepar

Tahapan pembuatan preparat histologi hepar terdiri dari fiksasi, dehidrasi dan infiltrasi, penjernihan (*clearing*), infiltrasi paraffin, *embedding*, *sectioning*, penempelan di gelas objek (Nathan *et al.*, 2015). Proses fiksasi mula-mula organ hepar direndam dalam larutan fiksatif yang berupa formalin atau PFA 4% selama 1-7 hari. Kemudian dimasukkan aquades selama 1 jam lalu dilakukan perendaman organ menggunakan alkohol bertingkat 70% selama 5 menit, dilanjutkan dengan 80% selama 5 menit, selanjutnya direndam dalam alcohol 90% selama 5 menit, dan kemudian perendaman dilakukan sebanyak 3 kali pada etanol absolute selama 20 menit. Perlakuan selanjutnya yaitu memindahkan organ hepar pada xylol 1 dan 2 masing-masing 20 menit. Selanjutnya organ hepar dicelupkan dalam paraffin cair

yang telah dituang dalam wadah. Kemudian paraffin akan memadat dan hepar berada dalam blok paraffin.

Proses selanjutnya yaitu pemotongan jaringan yang diawali dengan mengatur ketebalan irisan diatan 10µm untuk mempercepat pencapaian bidang potongan jaringan. Hepar dipotong dengan ukuran 5 µm. Irisan diambil dengan kuas dan dimasukkan pada air dengan suhu ruang untuk membuka lipatan yang mungkin terjadi pada preparat. Hasil irisan dipindahkan dengan menggunakan kuas ke dalam air hangat pada suhu 38-40°C untuk meluruskan kerutan halus yang ada. Irisan yang sempurna, diambil gelas objek dan dikeringkan, kemudian diletakkan pada hot plate 38-40°C sampai kering, selanjutnya preparat disimpan dalam inkubator pada suhu 38-40°C selama 24 jam (Muntiha, 2001).

4.4.7 Pengamatan distribusi MDA (*malondialdehyde*) dan F2-Isoprostan dengan metode immunohistokimia

Langkah-langkah dalam metode pewarnaan imunohistokimia diawali dengan langkah awal yaitu preparat direndam kedalam xylol I, xylol II alcohol bertingkat (100%, 90%, 80%, 70%), aquades selama 1 x 5 menit kemudian preparat dicuci dengan PBS Ph 7.4 selama 3 x 5 menit selanjutnya ditetesi 3% H₂O₂ selama 20 menit. Dicuci kembali dengan PBS Ph 7.4 selama 5 menit selama 3 kali dan diblok dengan FBS 5% selam 30 menit dalam suhu ruang. Dicuci kembali dengan PBS Ph 7.4 selama 5 menit 3 kali selanjutnya diinkubasi dengan atibodi primer (*Rat Anti MDA* dan *Rat Anti F2-isoprostan*) selama 24 jam dengan suhu 4°C dan dilakukan pencucian kembali dengan PBS Ph 7.4 selama 5 menit 3 kali. Berikutnya diinkubasi

sebagai antibodi sekunder berlabel biotin selama 1 jam dengan suhu ruang. Dicuci kembali dengan PBS Ph 7.4 selama 5 menit 3 kali.

Preparat ditetesi dengan SA-HRP (*Strep Avidin Horse Radish Peroxidase*) selama 40 menit dengan suhu ruang. Kemudian dicuci kembali dengan PBS ph 7.4 selama 5 menit 3 kali. Ditetesi dengan chromogen DAB (*Diamono Benzidine*) selama 10 menit dengan suhu ruang. Dicuci kembali dengan PBS ph 7.4 selama 5 menit 3 kali. Selanjutnya *counterstaining* menggunakan Hematoxylen selama 5 menit. Dicuci *mounting, entellan*, dan ditutup dengan coverglass. Hasil diamati dengan mikroskop (Ramos-Vara, 2005).

4.4.8 Analisis data distribusi MDA (*malondialdehyde*) dan F2-Isoprostan dengan teknik immunoratio

Preparat jaringan hepar hasil pewarnaan immunohistokimia diamati menggunakan mikroskop cahaya Olympus CX.21 perbesaran (1000x) sebanyak 5 lapang pandang setiap kelompok untuk melihat jumlah distribusi MDA dan F2-Isoprostan yang kemudian dianalisa menggunakan program *immunoratio*. Prinsip pembacaan presentase distribusi MDA dan F2-Isoprostan menggunakan program *immunoratio* yaitu dengan cara mendeteksi adanya pewarnaan DAB (*Diamano Benzidine*) yang ditandai dengan warna coklat. Presentase didapatkan dari luasan jaringan yang terwarnai coklat terhadap keseluruhan jaringan pada gambar, sementara pewarnaan hemotoxylen berfungsi untuk membedakan area yang tidak terpapar distribusi yang ditandai dengan warna biru pada jaringan (Nathan *et al.*, 2015).

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini menggunakan analisis kuantitatif untuk distribusi MDA serta F2-isoprostan yang dianalisa dengan SPSS

16.0 Edition for Windows dengan analiss ragam ANOVA, dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) $\alpha = 5\%$ untuk melihat perlakuan yang memberikan hasil signifikan.



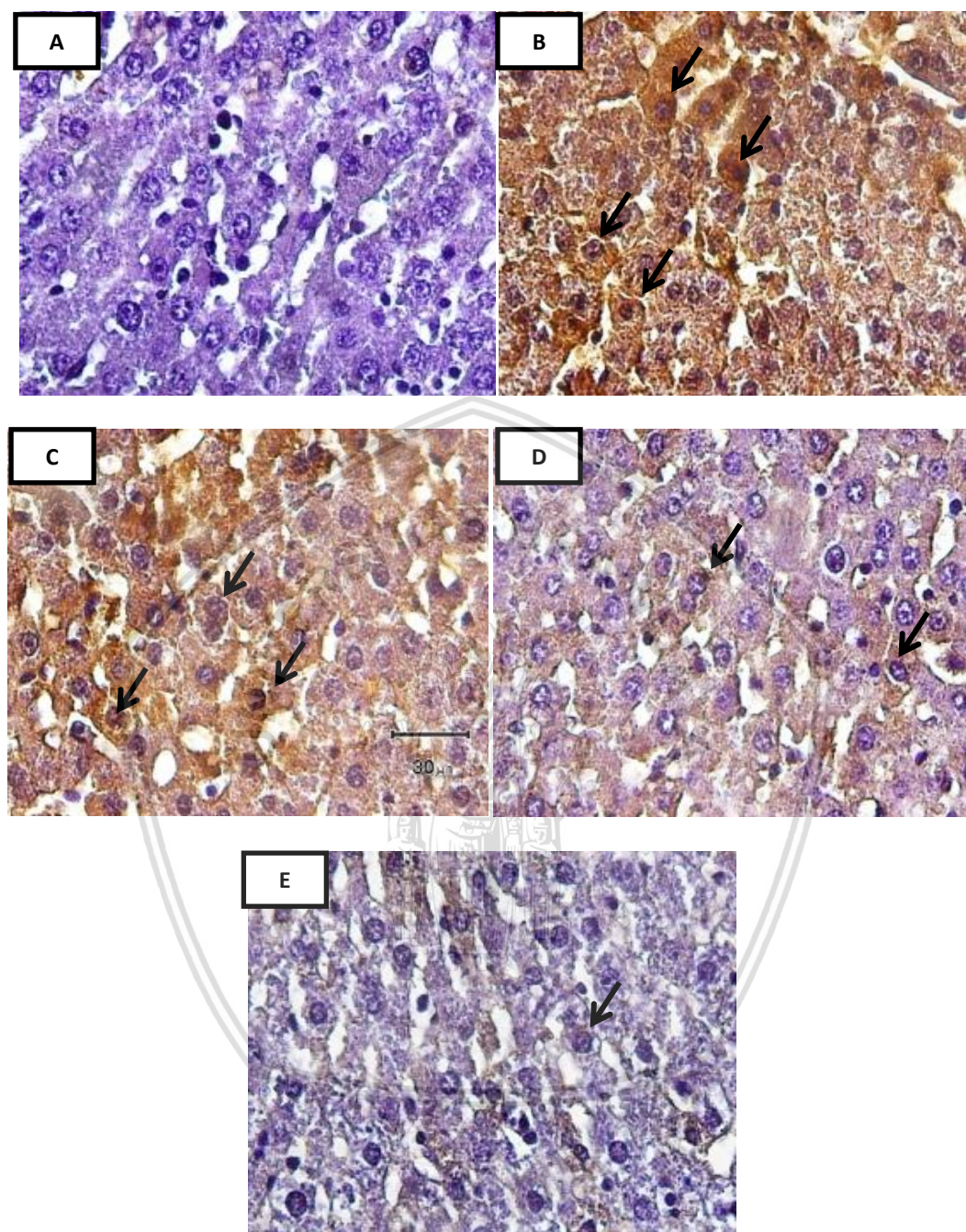
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kombinasi Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* (Ness) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciose L*) terhadap Peningkatan Distribusi *Malondialdehyde* (MDA) Jaringan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Diet Hiperglukosa.

Analisis distribusi *Malondialdehyde* (MDA) (**Tabel 5.1**) pada penelitian ini dilakukan dengan melakukan rata-rata lima lapang pandang persentase distribusi *Malondialdehyde* (MDA) pada jaringan hepar perbesaran 400x yang diproses melalui aplikasi *Immunoratio* pada setiap tikus pada semua ulangan tiap perlakuan, kemudian dilakukan analisis statistika menggunakan *One Way ANOVA* dengan aplikasi SPSS for Windows 16 dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf kepercayaan $\alpha=5\%$ (*Lampiran 8-9*).

Hasil distribusi *Malondialdehyde* (MDA) (**Tabel 5.1**) menunjukkan adanya warna coklat pada jaringan hepar tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet tinggi glukosa. Penggunaan antibodi *Rat anti MDA* dan *Rat anti F2-Isoprostanes* menggunakan metode imunohistokimia (IHK). Warna coklat yang dihasilkan merupakan reaksi antara enzim *Strept Avidin conjugated Horseradish Peroxidase* (SAHRP) yang berikatan dengan antibodi sekunder dengan kromagen *Diaminobenzidine* (DAB) (Immunostar, 2010).

Hasil pengamatan distribusi *Malondialdehyde* (MDA) pada preparat jaringan hepar tikus dari lima kelompok perlakuan seperti pada **Gambar 5.1**.



Gambar 5.1 Distribusi *Malondialdehyde* (MDA) pada Gambaran Immunohistokimia Jaringan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Perbesaran 400x.

Keterangan Gambar 5.1: (A) Tikus kontrol negatif, (B) tikus kontrol positif, (C) tikus terapi kombinasi ekstrak kayu manis dan bunga bungur dosis 4,5 mg/kgBB (P1), (D) terapi kombinasi ekstrak kayu manis dan bunga bungur dosis 9 mg/kgBB (P2), (E) terapi ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur dosis 18 mg/kgBB (P3). Tanda panah (↘) menunjukkan distribusi *Malondialdehyde* (MDA). Skala menunjukkan 1 garis adalah 30 μ m.

Tabel 5.1 Distribusi *Malondialdehyde* (MDA) pada Jaringan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi Diet Hiperglukosa dan Terapi Kombinasi Ekstrak kayu manis (*Cinnammomum burmnanii* (NESS) BI) dan bunga bungur (*Langestromia speciose* L)

Kelompok	Rata-Rata Distribusi <i>Malondialdehyde</i> (MDA)	Distribusi <i>Malondialdehyde</i> (MDA) (%)	
		Peningkatan Terhadap Kontrol Negatif (%)	Penurunan Terhadap Kontrol Positif (%)
Kontrol Negatif	0.78 ± 0.40^a	-	-
Kontrol Positif	12.08 ± 0.62^d	1526,2 %	-
Terapi 4,5 mg/kgBB	10.58 ± 0.38^c	-	16,5%
Terapi 9 mg/kgBB	5.63 ± 0.35^b	-	55,6%
Terapi 18 mg/kgBB	1.60 ± 0.31^a	-	87,3%

Keterangan: notasi *a,b,c,d* menunjukan bahwa ada perbedaan signifikan tiap kelompok ($p<0,05$)

Distribusi *Malondialdehyde* (MDA) pada jaringan hepar kontrol positif lebih banyak bila dibandingkan dengan kelompok yang lain. *Malondialdehyde* (MDA) merupakan senyawa yang dapat menggambarkan aktivitas radikal bebas di dalam sel sehingga dijadikan sebagai salah satu petunjuk terjadinya stres oksidatif akibat radikal bebas, mediator *Malondialdehyde* (MDA) merupakan suatu produk akhir peroksidasi lemak yang digunakan sebagai biomarker biologis peroksidasi lemak serta dapat menggambarkan derajat stres oksidatif (Asni dkk, 2009). Adanya distribusi *Malondialdehyde* (MDA) pada kelompok kontrol negatif karena *Malondialdehyde* (MDA) secara normal terdapat pada jaringan hepar.

Produksi MDA pada setiap perlakuan disajikan pada tabel 5.1. Rumus perhitungan persentase peningkatan dan penurunan produksi MDA dapat dilihat

pada Lampiran 8. Hasil pengamatan distribusi *Malondialdehyde* (MDA) secara statistik menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$) antar perlakuan.

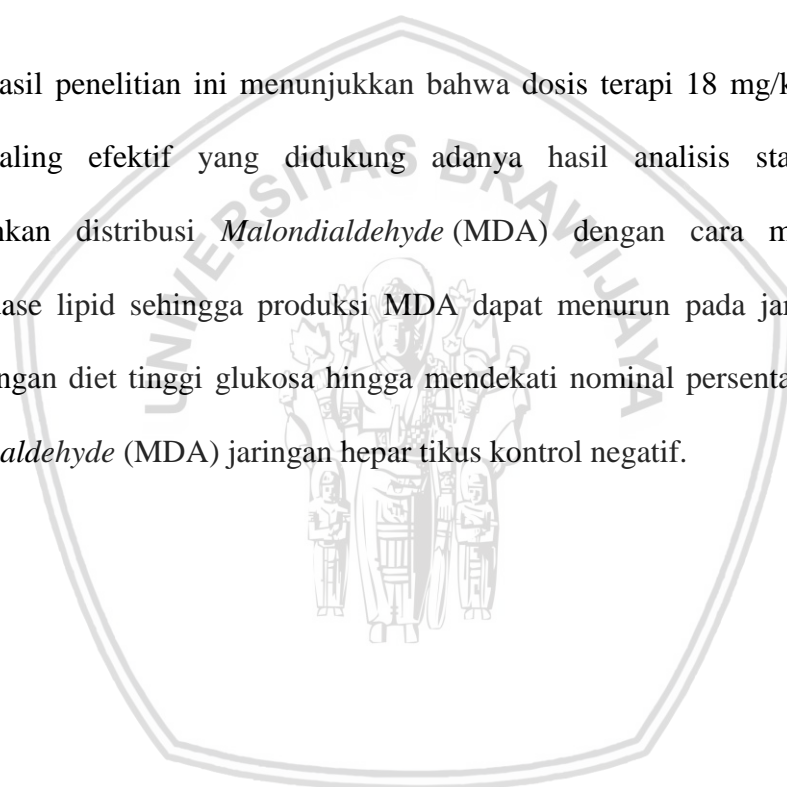
Secara statistik diperoleh hasil bahwa pada kelompok perlakuan kontrol negative atau dalam keadaan normal (tanpa perlakuan) menunjukkan terdapat produksi MDA, namun peningkatan yang terjadi lebih sedikit dibandingkan dengan peningkatan akibat hiperglukosa. Dalam keadaan sehat maupun sakit, MDA tetap diproduksi. Pada perlakuan K-jika dibandingkan dengan kontrol positif (K- berbeda nyata terhadap K+) yaitu terdapat peningkatan jumlah distribusi MDA sebesar 1526,2 %,.

Pada perlakuan P(1) dengan dosis ekstrak 4,5 mg/Kg BB memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif ($< 0,05$) yang ditandai dengan penurunan distribusi MDA sebesar 16,5% (K- berbeda nyata dengan P1). Sedangkan pada perlakuan P2 dan P3 yaitu dengan dosis 9 dan 18 mg/kg BB tampak signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif dengan penurunan distribusi MDA sebesar 55,6% dan 87,3% (K- tidak berbeda nyata dengan P1 dan P2).

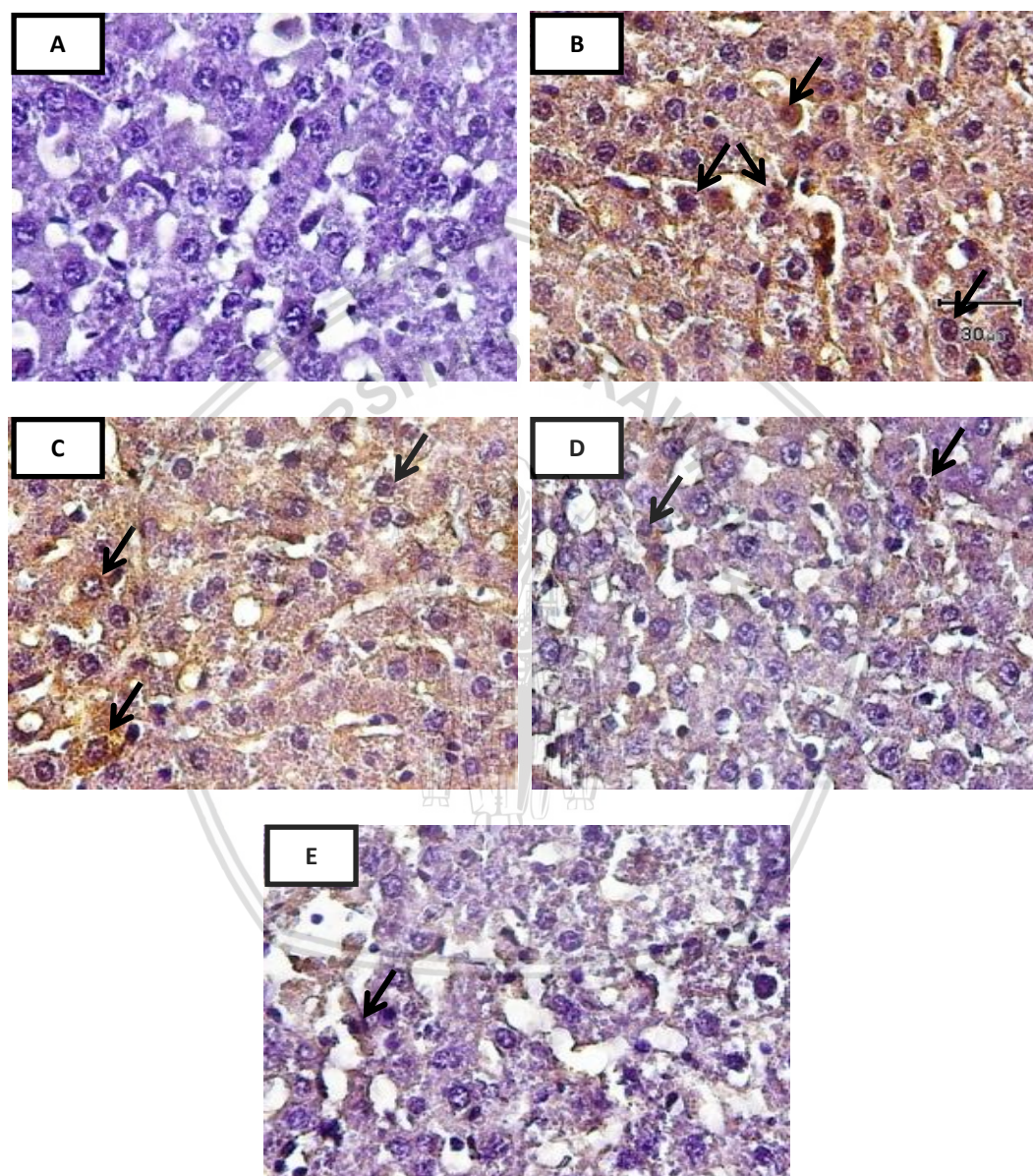
Pada perbandingan antara kelompok kontrol negatif (K-) dengan perlakuan, terlihat bahwa penurunan distribusi MDA ditunjukkan pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak dosis 18 mg/kg BB (P3). Hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata kelompok perlakuan P3 lebih mendekati K- dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang lain. Sehingga dapat ditunjukkan bahwa pemberian ekstrak dosis 18 mg/kg BB (P3) mampu menurunkan distribusi MDA hingga mendekati normal (K-). Hal ini menunjukkan ekstrak mampu berperan sebagai

antioksidan yang berfungsi untuk menyeimbangkan sel yang mengalami radikal bebas sehingga menjadi stabil dan ROS dihasilkan lebih sedikit. Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak dengan dosis 4,5 mg/Kg BB berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak dengan dosis 4,5 mg/Kg BB (P1) belum mampu menurunkan distribusi MDA mendekati kondisi normal.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dosis terapi 18 mg/kgBB adalah dosis paling efektif yang didukung adanya hasil analisis statistik dapat menurunkan distribusi *Malondialdehyde* (MDA) dengan cara meningkatkan peroksidase lipid sehingga produksi MDA dapat menurun pada jaringan hepar tikus dengan diet tinggi glukosa hingga mendekati nominal persentase distribusi *Malondialdehyde* (MDA) jaringan hepar tikus kontrol negatif.



5.2 Pengaruh Pemberian Ekstrak Kombinasi Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* (Ness) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) terhadap Peningkatan Distribusi F2-Isoprostan Jaringan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) dengan Diet Hiperglukosa.



Gambar 5.2 Distribusi F2-Isoprostan pada Gambaran Immunohistokimia Jaringan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) Perbersaran 400x.

Keterangan Gambar 5.2: (A) tikus kontrol negatif, (B) tikus kontrol positif, (C) tikus terapi ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur dosis 4,5 mg/kgBB, (D) tikus terapi ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur dosis 9 mg/kgBB, (E) tikus terapi



ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur dosis 18 mg/kgBB. Tanda panah () menunjukkan distribusi F2-Isoprostan. Skala menunjukkan 1 garis adalah 30 μ m.

Tabel 5.2 Distribusi F2-Isoprostan pada Jaringan Hepar Tikus (*Rattus norvegicus*) yang diberi Diet Tinggi Glukosa dan Terapi Kombinasi Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (Ness) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciosa* L)

Kelompok	Rata-Rata Distribusi F2- Isoprostan	Distribusi F2-Isoprostan (%)	
		Peningkatan Terhadap Kontrol Negatif (%)	Penurunan Terhadap Kontrol Positif (%)
Kontrol Negatif	0.84 ± 0.15^a	-	-
Kontrol Positif	12.67 ± 0.32^d	1404,4%	-
Terapi 4,5 mg/kgBB	10.92 ± 0.42^c	-	13,7%
Terapi 9 mg/kgBB	5.81 ± 0.82^b	-	54,1%
Terapi 18 mg/kgBB	1.47 ± 0.40^a	-	89,9%

Keterangan: notasi *a,b,c,d* menunjukkan bahwa ada perbedaan signifikan tiap kelompok ($p < 0,05$)

Analisis distribusi F2-Isoprostan (**Tabel 5.2**) pada penelitian ini dilakukan dengan melakukan rata-rata lima lapang pandang persentase distribusi F2-Isoprostan pada jaringan hepar tikus perbersaran 400x yang diproses melalui aplikasi *Immunoratio* pada setiap tikus pada semua ulangan tiap perlakuan, kemudian dilakukan analisis statistika menggunakan *One Way ANOVA* dengan aplikasi *SPSS for Windows 16* dan dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) dengan taraf kepercayaan $\alpha = 5\%$ (*Lampiran 10-11*).

Hasil distribusi F2-Isoprostan (**Gambar 5.2**) ditandai dengan adanya warna coklat pada jaringan. Timbul warna coklat di akibatkan oleh adanya ikatan antigen dan antibodi berlabel biotin sehingga dengan penambahan substrat kromogen akan menimbulkan warna kecoklatan. Pemberian antibodi sekunder

diikuti dengan penambahan *Strep Avidin conjugated Horseradish Peroxidase* (SA-HRP) dan substratnya berupa *Diaminobenzidine* (DAB). *Diaminobenzidine* (DAB) merupakan substrat dari peroksidase yang dapat menghasilkan warna kecoklatan, sehingga akan terbentuk warna yang lebih jelas pada jaringan tersebut (Ramos, 2005).

Produksi F2-Isoprostan pada setiap perlakuan disajikan pada tabel 5.2. Rumus perhitungan persentase peningkatan dan penurunan produksi F2-Isoprostan dapat dilihat pada Lampiran 10. Hasil analisis statistik (**Tabel 5.2**) menunjukkan bahwa terapi ekstrak kombinasi kayu manis dan bunga bungur secara signifikan ($p < 0,05$) menurunkan distribusi F2-Isoprostan. F2-Isoprostan merupakan marker stres oksidatif atau lipid peroksidasi *in-vivo* yang tergolong baru, paling baik, sangat stabil, dan secara signifikan lebih akurat daripada marker lainnya (Liu dkk, 1999; Patrignani dan Tacconelli, 2005; Dalle-Donne dkk, 2006). F2-Isoprostan telah ditemukan hampir di seluruh cairan biologis, namun darah (plasma ataupun serum) dan urin merupakan sampel penelitian yang paling umum digunakan karena paling mudah didapatkan, paling tidak invasif, dan memberikan hasil yang sama akurat dan presisi dari indeks stres oksidatif (Dalle-Donne dkk, 2006). Isomer 8-isoprostan dari F2-Isoprostan, merupakan isomer F2-Isoprostan yang paling banyak dihasilkan dan paling sering diteliti (Dalle-Donne, 2006). Penelitian menunjukkan bahwa distribusi total F2-Isoprostan (distribusi F2-Isoprostan bebas dan yang terikat dengan fosfolipid) diperkirakan dapat menggambarkan keadaan stres oksidatif yang sebenarnya (Barden dkk, 2001). **Gambar 5.2A** merupakan gambaran immunohistokimia (IHK) hepar kontrol

negatif, terdapat sedikit distribusi F2-Isoprostan yang pada kontrol negatif. Adanya distribusi F2-Isoprostan pada kelompok kontrol negatif karena F2-Isoprostan secara normal terdapat pada jaringan hepar.

Secara statistik diperoleh hasil bahwa pada kelompok perlakuan kontrol negative atau dalam keadaan normal (tanpa perlakuan) menunjukkan terdapat produksi F2-Isoprostan, namun peningkatan yang terjadi lebih sedikit dibandingkan dengan peningkatan akibat hiperglukosa. Dalam keadaan sehat maupun sakit, F2-Isoprostan tetap diproduksi. Pada perlakuan K- jika dibandingkan dengan kontrol positif (K- berbeda nyata terhadap K+) yaitu terdapat peningkatan jumlah distribusi F2-Isoprostan sebesar 1404,4%,

Pada perlakuan P(1) dengan dosis ekstrak 4,5 mg/Kg BB memiliki perbedaan yang signifikan dibandingkan kelompok kontrol negatif ($<0,05$) yang ditandai dengan penurunan distribusi F2-Isoprostan sebesar 13,7% (K- berbeda nyata dengan P1). Sedangkan pada perlakuan P2 dan P3 yaitu dengan dosis 9 dan 18 mg/kg BB tampak signifikan dibandingkan dengan kontrol negatif dengan penurunan distribusi F2-Isoprostan sebesar 54,1% dan 89,9% (K- tidak berbeda nyata dengan P1 dan P2).

Pada perbandingan antara kelompok kontrol negatif (K-) dengan perlakuan, terlihat bahwa penurunan distribusi F2-Isoprostan ditunjukkan pada kelompok perlakuan pemberian ekstrak dosis 18 mg/kg BB (P3). Hal ini ditunjukkan dari nilai rata-rata kelompok perlakuan P3 lebih mendekati K- dibandingkan dengan perlakuan kontrol yang lain. Sehingga dapat ditunjukkan bahwa pemberian ekstrak dosis 18 mg/kg BB (P3) mampu menurunkan distribusi

F2-Isoprostan soprostan hingga mendekati normal (K-). Hal ini menunjukkan ekstrak mampu berperan sebagai antioksidan yang berfungsi untuk menyeimbangkan sel yang mengalami radikal bebas sehingga menjadi stabil dan ROS dihasilkan lebih sedikit. Sedangkan pada kelompok pemberian ekstrak dengan dosis 4,5 mg/Kg BB berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif. Hal ini membuktikan bahwa pemberian ekstrak dengan dosis 4,5 mg/Kg BB (P1) belum mampu menurunkan distribusi F2-Isoprostan mendekati kondisi normal.

Kondisi hiperglukosa dapat disertai dengan peningkatan trigliserida melalui jalur liponeogenesis yaitu pembentukan asam lemak dari bahan non lemak seperti glukosa. Peningkatan trigliserida mengakibatkan penumpukan dan menghalangi jalan masuk glukosa sehingga pemanfaatan glukosa di sel menjadi terganggu, kemudian hal tersebut menyebabkan aksi insulin mengalami kerusakan dimana penurunan transport glukosa terganggu yang mengakibatkan distribusi gula darah tinggi. Berdasarkan penelitian Khan (2003) kayu manis memiliki kandungan senyawa yaitu *Methyl Hydroxyl Chalcone Polymer* (MHCP) yang mampu mencegah dan meringankan gejala penyakit diabetes. Cara kerja *Methyl Hydroxyl Chalcone Polymer* (MHCP) yaitu dengan mencegah peningkatan trigliserida, sehingga meminimalkan penumpukan trigliserida di sel, yang nantinya mampu menekan peningkatan distribusi gula darah di sel tersebut.

Sedangkan bunga bungur memiliki kandungan *ellagitanin* yang mampu meningkatkan aktifitas transport glukosa ke dalam sel adipose. Sehingga penumpukan yang terjadi di sel akibat peningkatan trigliserida dapat ditekan dengan kelancaran transport glukose ke dalam sel adipose. *Ellagitanin* pada bunga

bungur juga bertindak sebagai antioksidan yang mampu melindungi sel dan menangkal radikal bebas. *Methyl Hydroxyl Chalcone Polymer* (MHCP) dan *ellagitanin* memiliki kemampuan untuk menurunkan distribusi MDA dan F2-isoprostan dengan cara menurunkan stress oksidatif karena bertindak sebagai antiinflamasi dan antioksidan sehingga produksi MDA dan F2-Isoprostan menjadi menurun.

Penelitian ini menurunkan rata-rata distribusi MDA dan F2-Isoprostan yang akan terbentuk. MDA dan F2-Isoprostan yang sudah ada akan turun juga karena adanya metabolisme tubuh. MDA akan diubah menjadi Asetil Co-A yang kemudian masuk ke siklus Krebs yang diubah menjadi ATP dan CO₂.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terapi ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (Ness) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciosa* L) dosis 18 mg/kgBB paling efektif dalam menurunkan distribusi F2-Isoprostan pada jaringan hepar tikus dengan diet tinggi glukosa hingga mendekati nominal persentase distribusi F2-Isoprostan jaringan hepar tikus kontrol negatif bila dibandingkan dengan dosis 4,5 mg/kgBB dan 9 mg/kgBB.

BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diambil suatu kesimpulan bahwa:

1. Pemberian terapi ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (Ness) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciose* L) mampu menurunkan distribusi *Malondialdehyde* (MDA) pada jaringan hepar tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet hiperglukosa dengan dosis terapi efektif yaitu 18 mg/kgBB.
2. Pemberian terapi ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (Ness) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciose* L) mampu menurunkan distribusi F2-Isoprostan pada jaringan hepar tikus (*Rattus norvegicus*) dengan diet hiperglukosa dengan dosis terapi efektif yaitu 18 mg/kgBB.

6.2 Saran

Uji klinis sebaiknya dilakukan pada penelitian selanjutnya melalui terapi ekstrak kombinasi kayu manis (*Cinnamomum burmanii* (Ness) BI) dan bunga bungur (*Lagerstroemia speciose* L) pada diet hiperglukosa sebagai data pendukung penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustine, Destia., R Sri Wilarso Budi.2008. *Pengaruh Periode Penyimpanan Dan Perlakuan Pendahuluan Terhadap Viabilitas Benih Kayu Manis (Cinnamomum Burmannii BL)*. Bogor : Departemen Silvikultur Fakultas Kehutanan Institute Pertanian Bogor.
- Aiello et al. 2000. *The Merck Veterinary Manual*. Edisi ke-8. USA : White house station.
- Alatas, H., Tambunan, T., Trihono, P.P., Pardede, S.O.2002. *Buku Ajar Nefrologi Anak*.Edisi2 Ikatan Dokter Anak Indonesia. Jakarta.
- Almatsier,Sunita. 2001. *Prinsip Dasar Ilmu Gizi*. Jakarta : Gramedia Pustaka Utama.
- American Diabetes Association. *Diagnosis And Classification Of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care 2011;34:s62-9.
- American Diabetic Association, 2006. *Heart Disease and Hypercholesterolemia Statistics Update : A Report From the American Heart Association*. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/content/full/121/7/e46>. Diakses 10 Juni 2016.
- Amirudin R., 2009. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam : Fisiologi dan Biokimia hati. Edisi V. Jakarta. Interna Publishing. Hal : 627.
- Antony et al. 2007. A Tank System for studying benthic aquatic organism at predictable levels of turbidity and sedimentation : Case study examining coral growth limnol. Oceanogr. 44: 1415-1422.
- Asni, E., dkk. 2009. Pengaruh Hipoksia Berkelanjutan Terhadap Kadar Malondialdehid, Glutation Tereduksi, dan Aktivitas Katalase Ginjal Tikus, *Maj Kedokt Indon*, 59(12): 595-600.
- Asman Manaf.2012.*Prediabetes*. Padang : Fakultas Kedokteran Universitas Andalas.
- Astiti, R. I. A.2005. *Uji Hipoglikemik Daun Bungur (Langerstroemia Speciosa) Terhadap Kadar Glukosa Darah Kelinci*. Review Kimia, 8 (1) :112.
- Basu S. 2004. Isoprostanes: novel bioactive products of lipid peroxidation.*Pubmed* 2004 Feb;38(2):105-22
- Barden A, Ritchie J, Walters B, Michael C, Rivera J, Mori T, dkk. 2001. Study of Plasma Factors Associated With Neutrophil Activation and Lipid Peroxidation in Preeclampsia.Hypertension, 38:803-808.

- Bell D. S., 2001. *Importance of Postprandial Glucose Control*. South Med J. 2001; 94(8). USA: Lippincott Williams & Wilkins. Available from: <http://www.medscape.com/viewarticle/410819> [Accessed 12 Maret 2016].
- Cohen dan bonta.2004. *Corpendium : An Inflammatory Disease*. Medical World Business Press.
- Cranmer, H., dan Shannon, M. 2009. *Blood Glucose Levels: Medical Reference from Healthwise*. Hypoglycemia Diabetes Health Center.
- David. M. M. 2000. *Laboratory Animal Medicine And Science Series II. Health Sci. Coni.Edu*. Resources. Wasington Uni. U.S.A hlm.50-51.
- Dalimartha, S. 2005. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid 1. Trubus agriwidya, Jakarta. hal.170,198, 214.
- Dalimartha, S. 2003. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* Jilid 3. Cetakan I. Puspa Swara. Jakarta.
- Dalle-Donne, I., Rossi, R., Colombo, R., Giustarini, D., Milzani, A. 2006. Biomarkers of Oxidative Damage in Human Disease. *Clinical Chemistry*, 52(4):601-623.
- Devasagayam et al., 2003. Free Radicals and Antioxidants in Human Health Current Status and Future Prospect. Core curriculum by Division of Endocrinology, Mayo Clinic, Rochester. Minesota.
- Ellya, R.D., Sijani, P., Utju, R., dan Edhiwan, P., 2001. *Dislipidemia pada Kelompok Usia Lanjut di Lembang Bandung*. *Journal of Knowledge Management*, 1: 39-53.
- Ferry R. J., 2008. *Fructose 1,6-Diphosphatase Deficiency*. Available from: <http://emedicine.medscape.com/article/943882-overview> [Accessed 12 Maret 2016].
- Florensia Nailufar , Olivia Mayasari Tandrasasmita , Raymond Rubianto Tjandrawinata.2011. *DLBS3233 increases glucose uptake by mediating upregulation of PPAR _ and PPAR _ expression*. Divisions of Protein Biochemistry and Molecular Pharmacology, Dexa Laboratories of Biomolecular Sciences, Dexa Medica Group, Industri Selatan V Block PP No. 7, Jababeka Industrial Estate II, Cikarang, Jawa Barat 17550, Indonesia.
- Gale, E.A.M., dan K.M Gillespie. 2001. “ *Diabetes and Gender*”. *Diabetologia* 44 :3-15.
- Gill, James dan Parker, Philip. 2011. *Blood Glucose: A Medical of Dictionary, Bibliography, and Annotated Research Guide to Internet References*. San Diego: ICON Group International, Inc.

- Green,E.A dan R.A Flavell. 2000. *The Temporal Importance Of TNF-A Expression In The Development Of Arthristis Rheumatoid*. Journal immunity, 12:459-469.
- Gross.2005. *Diabetic Nephropathy: Diagnosis, Prevention, and Treatment*. Journal. Endocrinologia 26:1806-1811.
- Guyton AC and Hall JE.2006. *Textbook Of Medical Physiology*. 11th Ed, Elsevier Inc, Philadelphia, p. 840-851.
- Guzman, C., Claudia H-C, Lorena L-G, and Jorge M-M.2010. *interleukin-6: A Cytokine With Pleoiotropic Role In The Neuroimmunoendocrine Network*. The Open Neuroendocrinology Journal, 3, 152-160.
- Hadi, Sujono. 2002. *Sirosis Hepatis dalam Gastroenterologi*. Bandung:Alumni.pp:637-. 638.
- Harison, J. 2008. National Culture and The Compotition and Leadership Structure of Board of Directions. Corporate Governance: An International Review.
- Hayashi, T., H. Maruyama, R. Kasai. K. Hattori, S. Takasuga, O. Hazeki, K. Yamasaki, and T. Tanaka. 2002. *Ellagitanins From Langerstroemia Speciosa A Activators Of Glucose Transport In Fat Cells*. Planta Medica 68: 173-175.
- Jarvill-Taylor, Karalee J., Anderson Richard A., And Donald J. Graves.2001. *A Hydroxychalcone Derived From Cinnamamon Functions As A Mimetic For Insulin In 3T3-L1 Adipocytes*. Journal Of The American Collage Of Nutrition 20(4) : 327-336.
- Junquera, L.C., Jose C., and Kelley R.O. 2007. *Histology Dasar*. ECG. Jakarta .372.
- Joanna. 2007. *Effect Of Cinnamon On Postprandial Blood Glucose, Gastric Emptying, And Satiety In Healthy Subjects 1,2,3*. American Society For Clinical Nutrition. <http://ajcn.nutrition.org/content/85/6/1552.long>.
- Kaviarasan, S., Muniandy,S., Qvist, R., Ismail, IS.2009. F2-isoprostanes as Novel Biomarkers for Type 2 Diabetes: a Review. Mlaysia. *J. Clin. Biochem. Nutr.*, 45, 1-8, July 2009.
- Khan, A., Safdar, M., Khan, M.H.A., Khattak, K.N., Anderson, R.A., 2003. *Cinnamon Improves Glucose And Of People With Type 2 Diabetes*. *Diabetes Care* 26, 3215-3218. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14633804>.
- Kim, M.W. C. 2010. *Alasan Tikus Dipilih sebagai Hewan Percobaan*. [http://www. Alasan-Tikus-Dipilih-Sebagai-Hewan-Percobaan](http://www.Alasan-Tikus-Dipilih-Sebagai-Hewan-Percobaan). Diakses pada 27 November 2015.

- Kusningrum, R.S.2010. *Perancangan Percobaan*. Surabaya. Airlangga University Press.
- Liu F, Kim J-K , LiY , Liu X, Li J, Chen X.2001.*An extract of Lagerstroemia speciosa L. has insulin like glucose uptake stimulatory and adipocytes differentiation-inhibitory activities in 3T3-L1 cells*.JNutr2001;131:2242–7.
- Liu, T., Stern, A., Roberts, L.J. II, Morrow, J.D. 1999. The Isoprostanes: Novel Prostaglandin-like Products of The Free Radical-catalyzed Peroxidation of Arachidonic Acid. *Journal of Biomedical Science*, 6:226_/235.
- Mang B et al. 2006. *Effect of Cinnamon Extract On Plasma Glucose and Serum Lipids In Diabetes Mellitus Type 2*. European Journal of Clinical Investigation. Germany
- Masharani, U., Karam J.H., German M.S. 2004. *Pancreatic hormones & diabetes mellitus*. In : Greenspan F.S., Gardner D.G., editors. *Basic & Clinical Endocrinology*. 7th. Ed. USA : McGraw-Hill. p.658-63, 669-70, 683, 690, 693-7.
- Meagher RL, French JV. 2004. Augmentation of parasitoids for biological control of citrus blackfly in Southern Texas. *Florida Entomologist* 87(2):. 186-193.
- Merck & co., inc. 2008. Merck Index. USA: Whitehouse Station, NJ
- Mishra, Y., M.S.Y. Khan, R. Zafar, and S.S. Agarwal. 2000. *Hypoglycaemic activity of leaves of Lagerstroemia speciosa L.* Pers.*Indian Journal of Pharmacology* 22:174-176.
- Moselhy, S. S. 2009. *Hepatoprotective Effect Of Cinnamomum Extracts Against Carbon Tetrachloride Induced Oxidative Stress And Liver Injury In Rats*. *Biol Res*.42(1):93-8.
- Murray RK, Granner D K, Mayes PA, dan Rodwell VW. 2003. *Harper's Illustrated Biochemistry* . Twenty-Sixth Edition. Lange Medical Books/McGraw-Hill.
- Muzasti. 2011. *Nonalcoholic Fatty Liver Disease Pada DM Tipe 2* <http://repostory.usu.ac.id/handle/123456789/28231>.
- Nathan, David M. dan Linda M. Delahanty. 2005. *Beating Diabetes: The First Program Clinically Proven or Dramatically Improve Your Glucose Tolerance*. New York: Mc Graw Hills.
- Niedernhofer, Laura J., Daniels J., Rouzer, Carol A., Greene, Rachel E., and Marnett. Lawrence J.2003.Malondialdehyde, a Product of Lipid Peroxidation,is

Mutagenic in Human Cells. Journal Biological and Chemistry Vol 278, No. 33, pp.31426-31433.

Patrignani P, Tacconelli S. 2005. Isoprostanes and Other Markers of Peroxidation in Atherosclerosis. Biomarkers, 10(Supplement 1):S24-S29.

Nugroho, Agung Endro. 2006. *Review Hewan Percobaan Diabetes Mellitus : Patologi Dan Mekanisme Aksi Diabetogenik*. Biodiversitas issn: 1412-033x volume 7, halaman: 378-382.

Ping, Hua.,Zhang, Guijun., Guizing Ren.2010.*Antidiabetic Effect Of Cinnamon Oil In Diabetic KK-Ay Mice*. *ELSIVIER:Food And Toxicology* 48 2344-2349.

Price S. A dan Wilson, Lorraine M. C.2006. *Patofisiologi Clinical Concepts of Disease Process*.Edisi 6,Vol 2.

Popa,C.,M.G.Netea,M.v,Riel.,M.van der Meer J.W, A.Stalenhoef.2007. *The Role Of TNF- α In Chronic Inflammatory Conditions, Intermediary Metabolism, And Cardiovascular Risk*. *J lipid res* 48:751-762.

Prahastuti, Sijani, 2012. *Konsumsi Fruktosa Berlebihan dapat Berdampak Buruk bagi Kesehatan Manusia*. JKM, 10 (2) : 173-189.

Priyo,S. 2012. Nanocellulose Fibril Dari Kapuk Sebagai Drug Delivery Pada Ektrak Kunyit Dengan Metode Spray Drying. Institut Teknologi Sains Bandung University Press.

Ramos-Vara, J.A.2005.*Technical Aspects of Immunohistochemistry*. *J Vateriaary pathology*,vol.42,pp.405-426.

Raynold dan F. B. Paimin. 2010. *Kayu manis budidaya dan pengolahan*. Jakarta. Penebar Swadaya.

Roberts LJ, Morrow JD. *Measurement of F2-Isoprostanes as an index of oxidative stress in vivo*. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 505-13.

Schteingart DE, 2006. Metabolisme Glukosa dalam Diabetes Melitus. Dalam (Price SA, Wilson LM,ed) *Patifisiologi, Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit* Edisi 4 Buku II. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, hal 1111-1115.

Sherlock S. 1995. Penyakit hati dan sistem saluran empedu. Jakarta: Widya. Medika. Sherman K.E. 2004. Hepatitis C virus (HCV) and HIV/HCV Coinfection.

Sherwood, Tracy L., J. Ann, MD. Brown andMN. Feinglos. 2001. *Gestational Diabetes Melitus*. *Clinical Diabetes*:23(1); 17-24.

- Shulman, GI, 2000, *Cellular Mechanism of Insulin Resistance*, 106: (2):171-6.
- Sikka, S. C. 1996. Oxidative Stress a Role of Antioxidants in Normal and Abnormal Sperm Function, *Frontiers in Bioscience*. OMIM.
- Sirois, M. 2005. *Laboratory Animal Medicine*. United of State America: Mosby. Inc. Hlm 87-115.
- Steven, P.F.2001. *Angiosperm Phylogeny Website*. Dilihat 20 Maret 2016.
- Sudoyo, Aru W, dkk. 2007. *Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam*. Edisi 4, Jilid 1. Jakarta : Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI.
- Sukardji.2011. Penatalaksanaan Gizi pada Diabetes Mellitus. Dalam Sidartawan Soegono, Pradana Soewondo, dan Imam subekti (Ed), *Penatalaksanaan Diabetes Terpadu* (pp 51-52). Jakarta: Balai Penerbit FK-UI.
- Syofyan Rusli, Auzay, Hamid Ramdy, 2005. *Kayumanis (Cinnamomum spp) dalam Buku Perkembangan Penelitian Tanaman Penghasil Minyak Atsiri, Edisi Khusus Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, Vol VI No.I 1990.Balitro.
- Syukur, C., dan Hernani, 2002, *Budidaya Tanaman Obat Komersial*, 91, Penebar Swadaya, Jakarta
- Sloane E. 2004. Anatomi dan fisiologi untuk Pemula. Jakarta: EGC. hlm. 291. Smith AD. 2006. Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology, 2th ed.
- Vijaykumar, K., Murthy P.B, Kannababu S., Syamasundar B., and Subbaraju G.V. 2006. *Quantitative Determination Of Cocosolic Acid In Langerstroemia Speciosa Leaves, Extracts And Dosage Forms*. International Journal Of Applied Science And Engineering 4:103-104.
- Wangsa, Rasdi., Nuryani, Sri.2005. *Status Dan Potensi Pasar Kayu Manis Organic Nasional Dan Internasional*. Bogor : Aliansi Organisme Indonesia. www.organicindonesia.org.
- Weydert, CJ and Cullen, JJ. 2010. Measurement of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in cultured cells and tissue. Department of Molecular Physiology and Biophysics, The University of Iowa Carver College of Medicine, Iowa City, Iowa . USA.
- Widyastuti SK.2000. *Monyet Ekor Panjang (Macaca Fascicularis) Sebagai Model Diabetes Mellitus : Pengaruh Hiperglikemia Pada Lipid Darah, Serum Oksida Nitric (No) Dan Tingkah Laku Klinis.[Tesis]*. Bogor : Program Pasca Sarjana, Institute Pertanian Bogor.

- Wijaya, C.H., Rahminiwati, M., Wu, M.C., Lo, D. 2011. *Inhibition of α -Glukosidase and α -Amylase Activities of some Indonesian Herbs : In Vitro Study. The 12th ASEAN Food Conference 2011*. Bangkok 16-18 June.
- Ziegenfuss, TN. 2006. Effect of a water-soluble cinnamon extract on body composition and features of the metabolic syndrome in pre-diabetic men and women. Ojio Research Group : Ohio.

